p.149

北海道大学
水産学部研究彙報

第5巻　第2号

BULLETIN
OF THE
FACULTY OF FISHERIES
HOKKAIDO UNIVERSITY

Vol. 5 No. 2

北海道大学水産学部
函館市
昭和29年8月

FACULTY OF FISHERIES, HOKKAIDO UNIVERSITY
HAKODATE, JAPAN
AUGUST, 1954

目　次

GYMNOPLEA COPEPODA COLLECTED IN ALEUTIAN WATERS IN 1953*

Masateru ANRAKU
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

Introduction

The Japanese northern high-sea salmon fishery was reopened in 1952, seven years after cessation of hostilities, making research by Japanese investigators again possible in the far northern Pacific. For the training of cadets in navigational and fishery works as well as researches, T. S. Oshoro Maru, 607 tons motor-ship, of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, made a cruise to the Aleutian waters in May and June, 1953. The plankton samples obtained in this cruise were put at the disposal of the present author. The present report is concerned with Gymnoplea Copepoda.

The author wishes to acknowledge his indebtedness to Prof. S. Motoda, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, under whose direction the present project was initiated, and to the captain, officers and crew of the Oshoro Maru for affording the facilities for sampling. He is also grateful to Mr. N. Ogawa who worked in obtaining this series of collections.

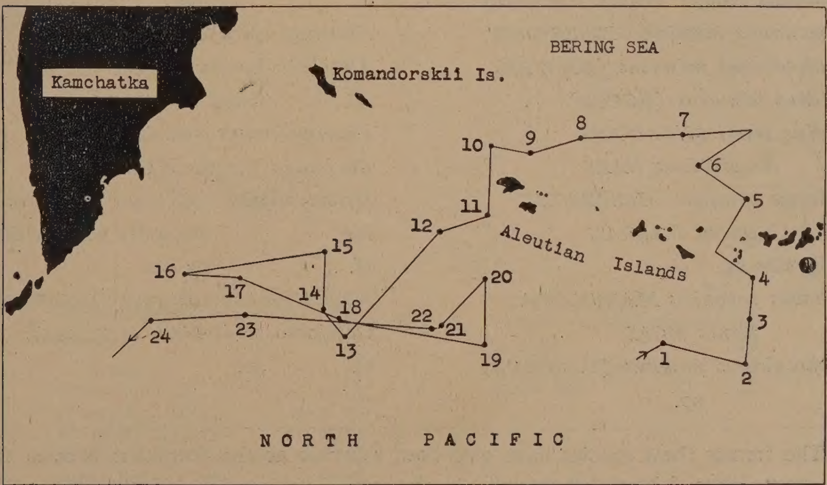


Fig. 1. Track and sampling positions of Oshoro Maru in 1953 cruise

* おしょろ丸 北洋調査報告 No. 1

The approximate locations of the twenty-four positions where samplings were made are shown in figure 1, and more exact positions are given in table 2. The plankton net used was made of coarse bolting silk, no. 40 silk grit gauze (39 meshes a linear inch) and measured 35 cm in mouth diameter by 130 cm in length. The vertical samplings were made sectionally from several different strata, viz., usually 1000-500 m, 500-150 m, 150-50 m, 50-20 m and 20-0 m, sometimes omitting the deeper ones, using an iron cap (Motoda & Anraku, 1954) for closing the net. The sampling time covered various hours, without regard to day or night. In the Aleutian waters the sun rose at about 1:00 a. m. and set at about 5:00 p. m. in early summer.

Species identified

Thirty-one species of Gymnoplea were identified from the materials (table 1). *Calanus plumchrus* * (=*Calanus tonsus* ?), *C. cristatus*, *Eucalanus bungii bungii*, *Metridia lucens* and *M. longa* were the most important constituents numerically among all the species.

Table 1. List of species collected

Calanus plumchrus MARUKAWA	*Scolecithricella minor* (BRADY)
C. cristatus KRÖYER	*S. obtusifrons* (SARS)
C. helgolandicus (CLAUS)	*S. ovata* (FARRAN)
Eucalanus bungii bungii JOHNSON	*S.* sp.
Rhincalanus nasutus GIESBRECHT	*Phaenna spinifera* CLAUS
Pseudocalanus minutus (KRÖYER)	*Metridia lucens* BOECK
Aetideus armatus (BOECK)	*M. longa* LUBBOCK
Gaidius tenuispinus SARS	*Pleuromamma robusta* (DAHL)
G. brevispinus SARS	*Lucicutia magna* WOLFENDEN
Gaetanus armiger GIESBRECHT	*Heterorhabdus papilliger* (CLAUS)
G. minor FARRAN	*H. abyssalis* GIESBRECHT
Euchirella sp.	*H.* sp.
Euchaeta japonica MARUKAWA	*Haloptilus oxycephalus* (GIESBRECHT)
E. plana MORI	*Candacia columbiae* CAMPBELL
Scaphocalanus magnus (T. SCOTT)	*C.* sp.
S. sp.	

The former three species have also been reported as the dominant species from the upper layer (above 150 metres) in the same region (Tsuruta & Chiba, 1954). *Rhincalanus nasutus*, *Aetideus armatus*, *Gaetanus minor*, *Euchirella* sp.,

synonymous

* Tanaka (1954) placed *Calanus plumchrus* with *C. tonsus*. However, Mr. Z. Nakai has informed the author that he was lead to the opinion that both were quite different on the basis of his recent study, although he had not been sure as to whether these two were really different.

Scolecithricella obtusifrons, *S. ovata*, *Phaenna spinifera* and *Haloptilus oxycephalus* occurred rather rarely. The above species belong to the cold water or abyssal forms, the warm water forms being entirely absent.

Scolecithricella obtusifrons (*SARS*) has been reported from the North Atlantic and southern Pacific Ocean. In the present samples only females were found, which agree fairly well with Breemen's (1908) description, and also with the description and figures given by Scott (1909). The rostrum is furnished with long and moderately stout filaments as in the Siboga's form (Scott, 1909). The apex of each filament is distinctly bifurcate (fig. 2). Body length 3.5 mm.

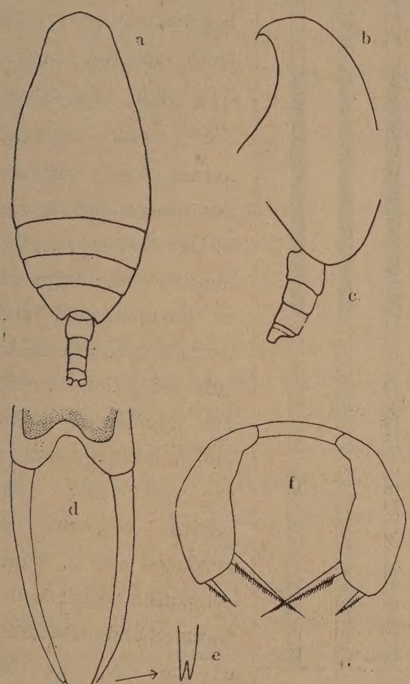


Fig. 2. *Scolecithricella obtusifrons* (♀)

a: dorsal ×16
b: head, lateral ×30
c: abdomen, lateral ×30
d: rostral filament ×195
e: apex of rostral filament ×410
f: 5th feet ×195

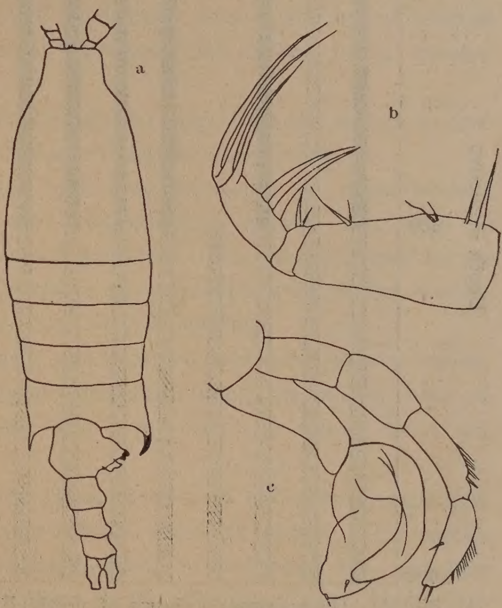


Fig. 3. *Candacia columbiae* (♂)

a: dorsal ×28
b: 1st maxilliped ×33
c: 5th feet ×55

Candacia columbiae CAMPBELL has been reported by Campbell (1929), and by Davis (1949) from off the west coast of Vancouver Island and northern Japan. The female of this species was described by Mori (1937) under the name of *Candacia*

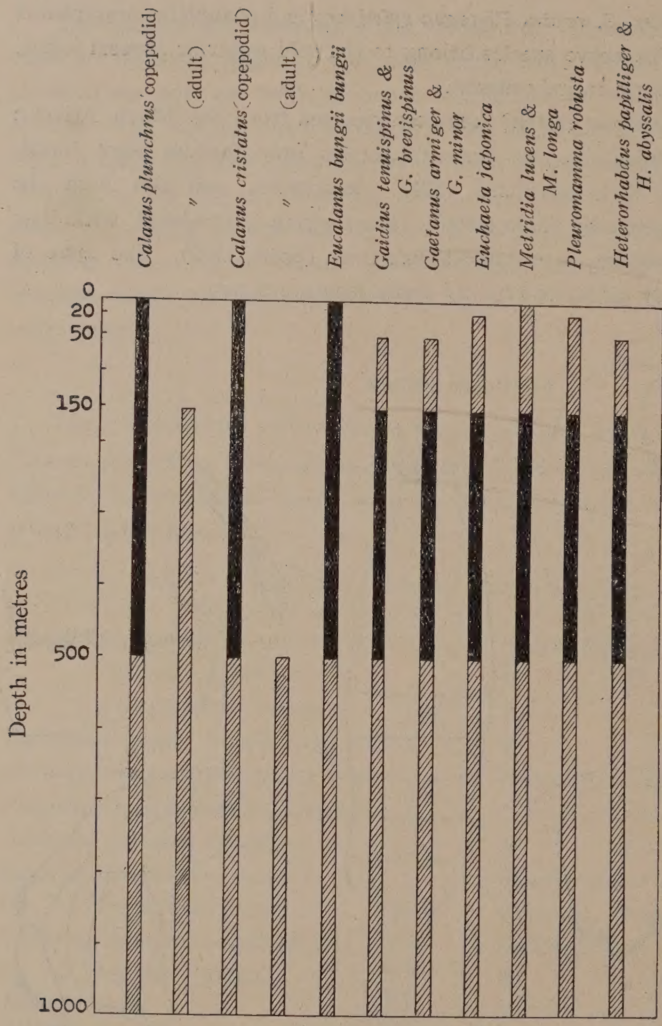


Fig. 4. Diagrammatic figure of vertical distribution of copepods

pacifica from Kushiro Harbor, southeast Hokkaido, and was also found from the northern Pacific and the Okhotsk Sea near Japan (Tanaka, 1953; Anraku, 1952, 1954a, 1954b), while the male has scarcely been found from Japanese waters. The male (fig. 3) of the present material agrees closely with the description and figures of Davis 1949), viz., the last thoracic segment is asymmetrical and furnished with the right side projection, which has pigmented point and is bent in towards the abdomen; the genital segment is produced into a large projection which is bifurcated and pigmented at the tip; on the posterior surface of the projection, and somewhat ventrally, is an ear-shaped lobe; the second, third, and fourth segments of abdomen are also slightly asymmetrical, being produced slightly on the right. The right fifth foot bears a chela. Body length 2.8 mm.

Vertical distribution of main species

A diagrammatic figure of the vertical distribution of main species is shown in figure 4.

Calanus plumchrus was distributed from the surface to 1000 metre depth (lower limit of the present hauls), though the number of individuals was rather rare at depths below 500 metres. The adults of both sexes were found only in the five collections from 1000 to 500 metre layer and in the three collections from 500 to 150 metre layer. It is assumed that their occurrence is generally limited to below 150 metres. The distribution of adult males was usually deeper than in the females. The present result has confirmed the previous findings of the adults of this species from the deep water of the Japan Sea, Okhotsk Sea and North Pacific Ocean (Yamada, 1938; Nakai, 1942a, 1942b; Motoda, Iizuka & Anraku, 1950; Anraku, 1952, 1954a; Furuhashi, 1953).

A large number of *Calanus cristatus* were found above 500 metres, occurring rather small in number below 500 metres as in the former species, and being scarcely found above 20 metres except at station 19. However, both sexes of adult *C. cristatus* have been reported from the deep water, at least deeper than about several hundred metres, of the Japan Sea and the Pacific (Tanaka, 1938; Nakai, 1942a; Anraku, 1952).

Eucalanus bungii bungii was found through the range from the surface to 1000 metres, though the majority occurred between 20 and 500 metre layers.

Both *Metridia lucens* and *M. longa* have been mentioned by many workers (Esterly, 1912; Clarke, 1933, 1934; Bogorov, 1946; Motoda & Anraku, 1951, 1952) as a species making conspicuous vertical diurnal migration. This was confirmed by the present investigation finding that an abundance of individuals were in the shallow layer at night, while in rather deep layer in the daytime.

A single species, *Pleuromamma robusta*, was identified from genus *Pleuromamma*. The distribution of this genus was commonly restricted within the middle layer of the sea, and the present specimens were also found below 50 metres, being not collected above 20 metres.

Euchaeta japonica was found in the layers from 20 to 1000 metres, especially abundant in 150 to 500 metres, and entirely absent above 20 metres. This species was described (Brodsky, 1938) as an abyssal copepod in the Japan Sea, and also reported from the deeper layer of the northern Pacific near Japan and Okhotsk Sea (Anraku, 1952, 1954a).

Gaetanus armiger and *Heterorhabdus* were found only below 50 metres.

Genus *Gaidius*, one of the abyssal copepods, has been reported by several workers from the deep waters in the Japan Sea and the Pacific Ocean (Brodsky, 1938; Motoda, Iizuka & Anraku, 1950; Tanaka, 1953). In the present investigation several individuals of both *Gaidius brevispinus* and *G. tenuispinus* were collected below 50 metres.

A few individuals of *Euchirella* sp. occurred only below 150 metres.

As a whole, the total quantity of copepods occurring in the strata from 500 to

Table 2. Relative abundance of each species collected near the Aleutian Islands

Position	1					2				3				
	49°22′N, 178°18′E					48°57′N, 178°49′W				50°00′N, 178°44′W				
Time	May14, 21:00～23:00					May15, 11:40～14:00				May15, 22:00～24:00				
Depth (m)	20–0	50–20	150–50	500–150	1000–500	20–0	50–20	150–50	500–150	20–0	50–20	150–50	500–150	1000–500
Calanus plumchrus (copepodid)	2	4		60			32	128	16			8	2	
〃 (adult)					16									
Calanus cristatus (copepodid)		8		12	1		80	8	8	2	88	18	4	3
〃 (adult)					11									5
C. helgolandicus				12			6	32				2	2	
Eucalanus bungii bungii		8	64	48				8	8			56	160	
Rhincalanus nasutus													1	
Aetideus armatus														
Gaideus tenuispinus			1	1									4	
G. brevispinus														
Gaetanus armiger			16	16				4	16					
G. minor														
Euchirella sp.									1					
Euchaeta japonica		1	1	4	4				2		2		23	
E. plana														
Scaphocalanus magnus														
S. sp.														
Scolecithricella minor												4		
S. obtusifrons													3	
S. ovata									4					
S. sp.								1	16					
Phaenna spinifera														1
Metridia lucens & *M. longa*	112	32		32	32	2		16	80	8	48		32	16
Pleuromamma robusta		8	40	24	24				16			24	48	2
Lucicutia magna														
Heterorhabdus papilliger			1	4	1				2		1		2	
H. abyssalis				2									6	
H. sp.														
Haloptilus oxycephalus														
Candacia columbiae	1	1							1					
C. sp.														

in 1953 (Individual number in a haul)

4					5					6				7		8	9		
50°58′N, 178°40.5′W					52°36′N, 178°46′W					53°22′N, 179°27′E				54°00′N, 178°57′E		53°50.5′N, 175° 24.5′E	53°35′N, 173°43′E		
May16, 6:30～8:30					May16～17, 23:20～1:00					May17, 11:20～12:45				May18, 11:30～12:30		May19, 7:30～10:30	May19, 5:30～6:30		
20-0	50-20	150-50	500-150	1000-500	20-0	50-20	150-50	500-150	1000-500	20-0	50-20	150-50	500-150	50-0	150-50	50-0	20-0	50-20	150-50
776	380	2	156		418	80	168	80		160	56	4	10	134	24	224	9	22	10
			12	12									10						
	60	4	24	1		4	16	32	4			12	30		40			2	42
				7															
	24	4																	
240	520	4	72		24	320	16	40		50	120	50	12	240	54	120		9	62
								4											
				4			16	4					4						
													4						
			32	8			8	56					18						
								2											
			3	1									1						
			16				2	24					16						4
												8							
											1								
		104	104	8		88	64	360	8	2		10	46	20	16				
			48	16				56			2		38						
			2					3	4				2						
								5	4				1						
			1										1						
								1											
			2										2						

Position	10					11				12		
	53°42′N, 172°09′E					52°15′N, 172°07′E				51°53′N, 170°23′E		
Time	May 20, 3:00～5:00					May 20, 5:30～6:30				May 21, 4:00～5:00		
Depth (m)	20–0	50–20	150–50	500–150	1000–500	20–0	50–20	150–50	500–150	20–0	50–20	150–50
Calanus plumchrus (copepodid)	8	24	8	32	12	8	8	16	2		1	5
〃 (adult)									12			
Calanus cristatus (copepodid)		4	32	40	4			4	10	74	4	
〃 (adult)												
C. helgolandicus												
Eucalanus bungii bungii		15	40	104				42	70			17
Rhincalanus nasutus												
Aetideus armatus												
Gaidius tenuispinus				32	4				6			
G. brevispinus												
Gaetanus armiger				24					10			
G. minor												
Euchirella sp.												
Euchaeta japonica				32	8			5	10			1
E. plana												
Scaphocalanus magnus				4				4				
S. sp.												
Scolecithricella minor												
S. obtusifrons												
S. ovata												
S. sp.												
Phaenna spinifera												
Metridia lucens & M. longa				56	32			8	186			
Pleuromamma robusta				56	8				24			
Lucicutia magna												
Heterorhabdus papilliger				6				1	3			
H. abyssalis				10					7			
H. sp.												
Haloptilus oxycephalus												
Candacia columbiae								1	3			
C. sp.												

13				14					15					16					17		
49°33′N, 167°01′E				50°09′N, 166°14′E					51°28′N, 166°24′E					50°55.5′N, 161°23′E					50°52′N, 163°18′E		
May 24, 0:30～2:30				May25, 14:00～16:00					May27, 12:30～15:00					Jun. 1, 6:00～8:00					Jun. 1, 14:00～		
20-0	50-20	150-50	500-150	20-0	50-20	150-50	500-150	1000-500	20-0	50-20	150-50	500-150	1000-500	20-0	50-20	150-50	500-150	1000-500	20-0	50-20	150-50
7	96	102	4	6	24	252	32		2	54	32	16		24	54	2	82		28	40	10
			10														14	2			
1	20	4	8	6	24	4	8	4		26	4	8			2	2	12	1	32	4	
													2					11			
			40		6	16									8	2	16				
	2	20	108			184	112				32	96			1	56	56	1	5	154	88
																		1			
																		4			
			8									8					16	5			
			6																		
			8									16					40				
			2																		
			14				1	4				8					40	2			4
		6									4										
																		12			
		2																			
			4																		
		4	46				8	8			32						280	16			4
			27				16				40						96				
			8																		
												1					2				
							1										3				
			4																		
											1						2				

Position	18					19					20				
	49°50.8′N, 166°46.2′E					49°24′N, 172°00′E					50°51.5′N, 172°00E				
Time	Jun. 2, 18:00~20:00					Jun. 5, 12:00~14:00					Jun. 6, 11:00~13:00				
Depth (m)	20–0	50–20	150–50	500–150	1000–500	20–0	50–20	150–50	500–150	1000–500	20–0	50–20	150–50	500–150	1000–500
Calanus plumchrus (copepodid)		32	8	3			94	16			48	40	32	12	
〃 (adult)					4									8	8
Calanus cristatus (copepodid)	1	24	8			280	18	2	16	4		8	1	12	3
〃 (adult)					8										5
C. helgolandicus		4	2				12	2				8	8		
Eucalanus bungii bungii			4		1			8	200	1	198	120	16	8	
Rhincalanus nasutus															
Aetideus armatus															
Gaidius tenuispinus									4					8	
G. brevispinus														1	
Gaetanus armiger									16					16	
G. minor															
Euchirella sp.															
Euchaeta japonica			1		4				16	4			8	8	8
E. plana															2
Scaphocalanus magnus									4					4	
S. sp.									2						6
Scolecithricella minor															
S. obtusifrons															
S. ovata															
S. sp.															
Phaenna spinifera															
Metridia lucens & M. longa			4		32			2	32	16			32	64	
Pleuromamma robusta									24					88	
Lucicutia magna									4	4					4
Heterorhabdus papilliger															
H. abyssalis															4
H. sp.														1	
Haloptilus oxycephalus															
Candacia columbiae													1	4	
C. sp.														1	

21			22	23			24		
49°48′N, 170°22′E			49°45′N, 170°15′E	50°03′N, 163°32′E			49°55′N, 160°15′E		
Jun. 10, 17:30~			Jun. 11, 17:00~	Jun. 16, 17:00~			Jun, 17, 17:00~		
20-0	50-20	150-50	20-0	20-0	50-20	150-50	20-0	50-20	150-50
1	9	34	150	1	34	4	6	14	10
12	3		73		12			4	10
		22		1	42	14	12	116	10
	1	8				1			1
					6				2
		14							

1000 metres was rather less than in the layers above 500 metres. However, the species number was large between 150 and 500 metre layers comparing with other strata both above and below.

Body weight and body length of *Calanus cristatus* and *Calanus plumchrus*

Almost all individuals of both *Calanus plumchrus* and *C. cristatus* of the present specimens belonged to the copepodid stage V. The body length of both species occurring in the 1000 metre vertical haul is shown in the following table.

Calanus cristatus		*Calanus plumchrus*	
Body length (mm)	Number of individuals measured	Body length (mm)	Number of individuals measured
8.00-8.49	6	4.00-4.49	5
8.50-8.99	13	4.50-4.99	10
9.00-9.49	1	5.00-5.49	5

The mean body length of *Calanus cristatus* (8.53 mm) was about twice that of *Calanus plumchrus* (4.58 mm), while the wet body weight of the former species (0.325 gr per 20 individuals) was about 6.4 times that of the latter (0.051 gr). The body length of *Calanus cristatus* of the present specimens is comparatively smaller than that reported by Nakai (1942a; about 9.4 mm) based on the specimens obtained around and near Japan. The range of the body length of *Calanus plumchrus* of the present specimens is 4.17 – 5.00 mm, whilst it is 4.21 – 5.03 mm in the Nakai's specimens. Although the ratio of the total number of individuals of *Calanus plumchrus* to *C. cristatus* through the whole collections is about 3.4 : 1, the body weight of *C. plumchrus* in whole collections is far less than that of *C. cristatus*. From this, *Calanus cristatus* may be of great importance in these waters from the viewpoint of nutritive value for salmon and other plankton-feeding fishes. This was also noticed by Nakai (1952) on the materials from the Aleutians in 1952.

The mean body length of immature *C. cristatus* (stage V) occurring in the upper layer (50 – 20 m) is 8.08 mm, while that of the lower layer (500 – 150 m) is 8.21 mm. The body length of the adult forms, occurring always below 500 metres, is about 8.33 mm in female and about 8.17 mm in the male, being sometimes slightly shorter than that of the last copepodid stage. The present specimens of adult *Calanus cristatus* are rather smaller than those collected in the deep water of Sagami Bay by Tanaka (1938 ; ♀ : 8.4–9.3 mm, ♂ : 7.4–8.6 mm). Present specimens in copepodid stage IV are about 5 mm in body length.

Summary

1. The present investigation deals with Gymnoplea Copepoda collected in Aleutian

waters in May and June, 1952.

2. Thirty-one species were identified. Among them, *Calanus plumchrus*, *C. cristatus*, *Eucalanus bungii bungii*, *Metridia lucens* and *M. longa* were found to be the main constituents of the large copepod community.
3. *Metridia lucens* and *M. longa* were abundant above 500 metre layer, and *Pleuromamma robusta*, *Heterorhabdus papilliger*, *H. abyssalis*, *Euchaeta japonica*, *Gaetanus armiger*, *Gaidius brevispinus* and *G. tenuispinus* inhabited mainly 500 – 150 metre layers.
4. *Calanus cristatus* was of most importance in quantity, being about 6.4 times *Calanus plumchrus* in wet weight.
5. The majority of *Calanus cristatus* and *C. plumchrus* belonged to copepodid stage V, and were distributed between 1000 metre depth and the surface, particularly predominantly above 500 metres.
6. The adults of both sexes of *Calanus plumchrus* were found in the collection from 500 to 150 metres and also from 1000 to 500 metres, while those of *Calanus cristatus* were found only in the collection from 1000 to 500 metres.

Literature cited

Anraku, M. (1952). Plankton copepods collected by R. S. "Yushiwo-maru" in Pacific waters to the east of northern Japan during her cruise in November 1948. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **3** (1), 31-39. (in Japanese).

———— (1954a). Distribution of plankton copepods off Kitami, Hokkaido, in Okhotsk Sea in summer, 1949 and 1950. *Ibid.* **4** (4), 49-55.

———— (1954b). Copepods collected on the whaling grounds off northern Japan and around the Bonin Islands. *Ibid.* **4** (5), 1-8.

Bogorov, B. G. (1946). Peculiarities of diurnal vertical migrations of zooplankton in Polar Seas. *Jour. Mar. Res.* **6** (1-3), 25-32.

Breemen, P. G. (1908). Nordisches Plankton. VIII. Copepoden, 1-264.

Brodsky, K. A. (1938). Plankton investigation in the northeastern part of the Japan Sea. *Bull. Pacific Sci. Inst. Fish. Oceanogr.* (Vladiostok) **10**, 159-182. (in Russian. with English summary).

Campbell, M. H. (1929). Some freeswimming copepods of the Vancouver Island region. *Trans. Roy. Soc. Canada* **23** (5), 303-322.

Clarke, G. L. (1933). Diurnal migration of plankton in the Gulf of Maine and its correlation with changes in submarine irradiation. *Biol. Bull.* **65** (3), 402-436.

———— (1934). Further observations on the diurnal migration of copepods in the Gulf of Maine. *Ibid.* **67** (3), 432-455.

Davis, C. C. (1949). The pelagic copepoda of the northeastern Pacific Ocean. *Univ. Washington Publ. Biol.* **14**, 1-118.

Esterly, C. O. (1912). The occurrence and vertical distribution of the copepoda of the San Diego region, with particular reference to nineteen species. *Univ. Calif. Publ. Zool.* **9** (6), 253-340.

Furuhashi, K. (1953). On the vertical distribution of animal plankton in the sea of Japan off San'in-District in summer of 1952. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* **3** (1), 61-74.

Mori, T. (1937). *The pelagic copepoda from the neighbouring waters of Japan.* 149p. Tokyo; Yokendo.

Motoda, S. & Anraku, M. (1951). An observation on the vertical distribution of plankton at Ishikari Bay, Hokkaido. *Jour. Oceanogr. Soc. Jap.* **6** (4), 194-201. (in Japanese).

——— & ——— (1952). Observation on the plankton of Funka-Bay, Hokkaido. I. Vertical distribution of plankton at the mouth of the bay in August, 1950. *Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab.* **5**, 17-20. (in Japanese).

——— & ——— (1954). Daily change of vertical distribution of plankton animals near western entrance to the Tsugaru Strait, norhern Japan. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **4** (5), 15-19.

Motoda, S., Iizuka, A. & Anraku, M. (1950). Distribution of plankton in the waters northwest of Hokkaido in summer of 1949. *Hokubunihonkai Shinkai Gyoden Chosahokoku* (Rep. Res. Deep Sea Fishery in northern Japan Sea), summer 1949, Otaru, 79-109. (in Japanese).

Nakai, Z. (1942a). The chemical composition, volume, weight and the size of the important marine plankton. *Jour. Oceanogr. Soc. Jap.* **1** (1-2), 45-55. (in Japanese).

——— (1942b). [Sardine in Korea]. *Kaiyo-no-kagaku.* Oceanogr. Soc. Jap. **2** (3), 198-204. (in Japanese).

——— (1952). On quantitative distribution of plankton reproduced in the Northern Pacific. *Special Pub. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* **2**, 1-6.

Scott, A. (1909). The copepoda of the Siboga expedition. Pt. I. Free swimming, littoral and semi-parasitic copepoda. 323p. Leyden.

Tanaka, O. (1938). Note on *Calanus cristatus* Kröyer. *Jap. Jour. Zool.* **7** (4), 599-610.

——— (1953). The pelagic copepods of the Izu region. *Rec. Oceanogr. Wks. Japan*, N. S. **1** (1), 126-137.

——— (1954). Note on *Calanus tonsus* Brady in Japanese waters. Jour. Oceanogr. Soc. Jap., 10 (1), 29-39.

Tsuruta, A. & Chiba, T. (1954). On the distribution of plankton at the fishing ground of salmons in the North Pacific Ocean 1952. *Jour. Shimonoseki Coll. Fish.* **3** (3), 239-245. (in Japanese).

Yamada, T. (1938). Supplementary note on the classification of some species of copepoda. *Suisan-gakkai-ho* **7** (4), 183-188. (in Japanese).

Although there is Martin W. Johnson's report on the plankton of the Bering Sea, "The production and distribution of zooplankton in the surface waters of Bering Sea and Bering Strait. Part II(B), Rec. Oceanogr. Cruise U. S. Coast Guard Cutter Chelan 1934 (mim. rept.)", this report is inaccessible to the present author.

ON THE SPECIFICITY OF KIDNEY CATALASE ACTIVITY IN SALMONID FISHES

Shinjiro KOBAYASHI and Ryogo YUKI
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

Many investigators have been of the opinion that some biochemical changes all combine to change the tissues of the freshwater salmon parr toward the marine salmon at the time of smolt transformation, to modify in turn the internal environment, and perhaps to force the fish to migrate under a correlation with cyclical changes in the external environment.[1)–9)]

It is easily understood that mucous or silvering coat, gill, oral membrane and kidney are important as the functional sites of osmoregulation when fishes are transferred from freshwater to sea water or *vice versa*.[3) 10)] The finding of the chloride cells in both the gill and inner surface of the operculum is very important in this connection.[2) 3) 11)–14)] However, as Black[3)] has stated, there has been no marked evidence presented to prove that the ability of fish to adapt to sea water is dependent for the most part on the chloride cells. It seems to be probable that diadromous or euryhaline fishes might maintain osmotic homeostasis in sea water not only by means of the chloride cells, but also by some specific characteristics of the kidney. In this connection, the finding on the existence of the kidney phosphatase in some marine fishes is very suggestive.[15)]

Morphologically, the kidney of the salmonid fishes has been classified from the glomerular structure into the same group with that of the typical freshwater fishes.[16) 17)] However, Grafflin[18)] has concluded that there is no correlation between the structure of the kidney and potentiality to adapt to fresh or to sea water. Possibly, biochemical studies on the kidney may give some answers to Grafflin's conclusion.

Having such a purpose in mind, the present authors undertook the below-described preliminary experiment to find some specific characteristics of the kidney catalase activity in the salmonid fishes, sweetfish and lamprey, also those of some typical freshwater and marine fishes.

Although the physiological role of the catalase is still a matter for discussion,[19)] it has been clarified that the catalase has not only a function of dissolving hydrogen peroxide which is toxic to living cells, but also that it has an oxidatic function in living cells or organisms, and that it has a close resemblance in spectral structures to horseradish peroxidase, cytochrome and hemoglobin.[19)–21)]

The authors are indebted to the following persons who aided in supplying the materials used: staff members of the Hokkaido Fish Hatchery, staff members of the

Ueda Branch of the Freshwater Fisheries Research Laboratory, the members of the Fisheries Association of Kamiiso, Hokkaido, Messrs. T. Kubo and W. Otomo of Hokkaido University, and Mr. T. Ishii. Thanks are likewise offered to Prof. W. S. Hoar of the University of British Columbia for his kind sending of literature. Thanks are also due to Mr. H. Fukuda of Miyazaki University for his helpful suggestions regarding the measurement of the tissue catalase activity. The authors wish to acknowledge their indebtedness to Prof. S. Sato and Mr. T. Ueno of Hokkaido University for kindly identifying the species of the fishes used.

MATERIALS AND METHODS

Fishes. Various kinds of records of the fishes used in the present experiment are summarized in Table 1. Most of these fishes were transported from the localities where they had been collected, into the laboratory by preserving them in a portable ice-box. They were dissected, at least within 24 hours, to obtain the tissues to be tested. Only in the case of the crucian carp, they were sacrificed after being fed sparingly one or two days in a laboratory tank with dried and ground crustacean larvae. Both male and female fishes were used, since no differences of the tissue catalase activities were detectable between the sexes, though the number of individuals examined were only a few in most of the species.

Blood sampling. The blood catalase activity of only 3 species was examined. In all cases, the blood was collected from caudal vessels.[22] To prevent blood coagulation, the blood drops were collected in a small vessel, the inner wall of which has been previously filmed with dried powder of the appropriate volume of 0.2%

Table 1. Records of the fishes used in this experiment

No.	Species (Common name)	Date of sampling	Body		Habi-tat*
			Weight g	Standard length mm	
	Salmonidae				
1a	*Oncorhyuchus keta*, fry (Chum salmon)	Aug. 11	3–5	64–74	F
1b	ditto, underyearling	Dec. 8 & 21	6–28	85–143	F
1c	ditto, adult mature	Nov. 26	2600–5000	620–760	F
2	*O. nerka* (Landlocked red salmon)	Aug. 11	121	213	F
3a	*O. masou*, smolt (Masu)	June 30	18–31	117–144	F
3b	ditto, parr	July 9	23–73	107–166	F
4	*Salmo irideus* (Rainbow trout)	Aug. 3	22–42	110–140	F
5	*Salvelinus malma* (Dolly vorden trout)	Nov. 26	130, 165	200, 235	F
6	*S. fontinalis* (Brook trout)	ditto	127–460	218–323	F
7	*S. leucomaenis pluvius* (Mountain trout)	ditto	50–285	150–280	F
	Plecoglossidae				
8a	*Plecoglossus altivelis* (Sweetfish)	Aug. 19	50–57	145–155	F
8b	ditto	Aug. 23	15–26	107–125	F
8c	ditto	Aug. 26	33–42	137–148	F

	Cyprinidae				
9	***Hemibarbus barbus*** (Barbel)	Oct. 8	41–112	136–161	F
10	***Pseudogobio esocinus*** (False goby minnow)	ditto	9–44	104–166	F
11	***Pseudorasbora pumila*** (a species of minnow)	Oct. 10	3–8	58–75	F
12	***Zacco platypus*** (a species of minnow)	Oct. 8	11–27	87–120	F
13a	***Tribolodon hakuensis hakuensis*** (Common dace)	July 16	4–46	64–146	M
13b	ditto	Aug. 11	101, 167	184, 209	F
14	***Carassius auratus*** (Crucian carp)	May 26–27	22–89	96–152	F
15	***Cyprinus carpio*** (Carp)	Oct. 1	128–187	170–200	F
16	Siluridae				
	Parasilurus asotus (Sheatfish)	Oct. 9	103, 106	263, 265	F
17	Cobitidae				
	Misgurnus anguillicaudatus (Loach)	Sept. 10	7–12	105–126	F
18a	Anguillidae				
	Anguilla japonica**,** cultured (Eel)	Sept. 30	119–221	460–530	F
18b	ditto, river	Oct. 9	149–635	530–750	F
19	Cottidae				
	Cottus pollux (Sculpin)	ditto	15, 28	122, 130	F
	Osmeridae				
20	***Hypomesus olidus*** (Pond smelt)	Oct. 24	2–4	54–72	F
21	***H. japonicus*** (Surf smelt)	Dec. 17	10–17	107–130	M
	Engraulidae				
22	***Engraulis japonicus*** (Anchovy)	Dec. 3	11–32	110–140	M
23	Aulorhynchidae				
	Aulichthys japonicus (Cornet fish)	July 16	2, 3	103, 115	M
24	Hemirhamphidae				
	Hemirhamphus sajori (Half beak)	Dec. 3	24	206	M
	Carangidae				
25	***Tarachurus japonicus*** (Horse mackerel)	ditto	4–7	60–72	M
	Tetraodontidae				
26	***Sphaeroides borealis*** (a species of puffer)	ditto	44–93	110–140	M
27	***S. stictonotus*** (Spotted puffer)	ditto	29	95	M
28a	Hexagrammidae				
	Hexagrammos otakii (Green ling)	ditto	28	115	M
28b	ditto	July 16	15	94	M
29	Ammodytidae				
	Ammodytes personatus (Sand lance)	Dec. 3	32–39	183–198	M
30	Blenniidae				
	Opithocentrus ocellatus (a species of blenny)	July 16	3–32	62–126	M
31	***O. zonope*** (a species of blenny)	ditto	7	92	M
32	Pleuronectidae				
	Cleisthenes herzensteini (a species of flounder)	Dec. 17	78–106	185–200	M
33	***Microstomus achne*** (a species of flounder)	March 3	86–135	175–202	M
	Sphyraenidae				
34	***Sphyraena japonica*** (Barracuda)	Dec. 14	41	179	M
	Petromyzontidae				
35	***Lampetra japonica*** (Lamprey)	Dec. 4	156–220	450–520	F

* Habitat. F : Freshwater. M : Marine.

sodium oxalate solution. Using a melangér, the blood was diluted, in most cases, into 500 times by M / 7.5 NaCl. Thus, the blood catalase activity was measured on the erythrocyte suspension prepared in such a manner. Just as in the blood of man and rabbit,[23] no reduction of the activity was found in the crucian carp, at least for 36 hours, when the suspension had been preserved in ice-box.

Tissue sampling. In most of the species, only the liver and kidney were removed

from each fish. In 9 species, liver (or hepatopancreas), kidney, gill, stomach (or anterior intestine) and white skeletal muscle were sampled. In some small fishes, such as chum salmon fry, 2 to 4 tissues were combined, as a single tissue was too small to make an enzyme solution. For instance, the total wet weight of 2 kidneys of the chum fry was hardly 0 06 - 0.08 g. In case of the liver and kidney, generally the whole tissue was sampled respectively, except for the special case of a large fish, such as a mature adult salmon, in which case a small cut of each tissue was removed. Gills were cut off from one side of each fish. After both scales and skin had been flayed, white skeletal muscle was cut off in an appropriate mass, from the constant portion of the body, such as just ventral to the anterior part of the dorsal fin.

Enzyme preparation. In all cases, each of the chilled tissues was finely ground within a mortar or homogenated by a glass homogenizer, without the addition of any kind of abrasives, and then, diluted into 100 - 3000 times of the tissue wet weight g, by adding the required volume of M / 7.5 NaCl. After being filtrated through the 4 sheets of gauze to remove gross particles, it was preserved for about 2 hours, in an ice-box to extract the tissue enzyme. From the preliminary experiments for finding the optimum degree of the dilution of the tissue, it was ascertained that dense concentration of the enzyme solution is not desirable for the permanganate titration, possibly due to side reactions between permanganate and impurities.[19] Further, it was found that a tissue having high catalase activity such as liver and kidney must be diluted into a suitable degree, at least, under the conditions of the

Table 2. (a) Relation between catalase activity and rate of dilution in liver

Rate of dilution	*Salmo irideus***				*Microstomus achne*			
	No. 1		No. 2		No. 1		No. 2	
	k	CA*	k	CA	k	CA	k	CA
250	0.1366	34	0.1570	39	0.1606	40	0.1603	40
500	0.1314	66	0.1515	76	0.1440	72	0.1400	70
750	0.1092	82	0.1116	84	0.0935	70	0.0887	67
1000	0.0989	99	0.0991	99	0.0619	62	0.0630	63
1500	0.0373	56	0.0406	61	0.0378	57	0.0384	58
2000	0.0284	57	0.0298	60	0.0278	56	0.0281	56
3000	0.0176	53	0.0199	60	0.0170	51	0.0157	47

(b) Relation between catalase activity and rate of dilution in kidney

250	0.0498	12	0.0853	21	0.1125	28	0.1099	27
500	0.0278	14	0.0289	14	0.0549	27	0.0464	23
750	0.0199	15	0.0195	15	0.0325	24	0.0282	21
1000	0.0133	13	0.0116	12	0.0242	24	0.0210	21
1500	0.0081	12	0.0087	13	0.0143	21	0.0120	18

* CA, catalase activity; ** date of experiment, March 17.

present estimation. As indicated in Table 2, when dilution of the tissue was made to be in the range of about $0.020 < k < 0.040$*, the catalase activity was desirably measured, for the first time, to be approximately constant. Otherwise, the activity is measured to be either too high or too low, comparing with its proper value. However, as the catalase activities of the gill, stomach and white skeletal muscle are highly variable, these tissues were diluted uniformly to 100 times. So, the catalase activities of these tissues as presented in this paper may be, in most cases, a little lower than their proper values.

Estimation and calculation of the tissue catalase activity. The present method of the estimation was established for obtaining only the relative values of catalase activity in every tissue among the species. One ml of the tissue enzyme solution was allowed to react with 5 ml of 0.04 N H_2O_2 at 20°C, the reaction being stopped after 10 minutes by the addition of 2 ml of 10 % H_2SO_4. The H_2O_2 remaining was estimated by titration with 0.01 N $KMnO_4$. To prepare 0.04 N H_2O_2, M/15 phosphate buffer solution (pH 6.9) of Sörensen was used, and NaCl was added up to 0.5 %. The catalase activity presented in this paper was calculated in k per dilution rate of tissue wet weight g (*cf.* Table 2), except that of the blood, where it was calculated in k per dilution rate of the blood volume sampled.

RESULTS

The catalase activities of the liver and kidney were measured in 35 species belonging to 19 families, including both freshwater and marine fishes; those of the gill, stomach, skeletal muscle and blood were also estimated in several species. The results are shown in Tables 3 and 4. Although the species examined are few in number, the catalase activities of these tissues are arranged approximately in the following order: liver > kidney > blood > gill > stomach > skeletal muscle.

The specificity of the kidney catalase activity in the salmonid fishes, sweetfish and lamprey

The catalase activities of the kidneys are given in Table 3, together with those of the livers. As is clearly seen in this table, the kidney catalase activities in all of the salmonid fishes, sweetfish (No. 8) and lamprey (No. 35) are much higher than those in the typical freshwater fishes (No's. 9–19, except No. 13). It is noteworthy that both the sweetfish and lamprey are also diadromous fishes like some of the salmonid species examined. In all of the salmonid fishes, this specificity was commonly found regardless of the stage of development, or whether they were landlocked forms, parr or smolt.

Among the diadromous fishes examined, however, three exceptions were found, *viz.*, common dace (No. 13), pond smelt (No. 20) and eel (No. 18). As to the first

* $k = 1/t \cdot \log X_0/X$; the extrapolation for $t \to 0$ was not made.

species, both the marine (a) and freshwater (b) forms were collected and examined. The kidney catalase activities of both forms are equally low, being the same as those of the typical freshwater fishes. The second species showed also a low catalase activity in the kidney. The individuals used were all landlocked form and very small in body size, as indicated in Table 1. It is not clear at present whether the observed low activity resulted from the very small size of the kidney or it was a proper value of this species. If the latter is the case, the clear difference of the kidney catalase activity between this species and surf smelt (No. 21) may become a basis for the systematic confusion of these two species.[24] The kidney catalase activity of the third species (the eel) is extremely low, both cultured and river forms showing an equal level.

In all of the typical freshwater fishes, the catalase activity of the kidney was

Table 3. Catalase activities of the liver and kidney in fish

No.	Species	No. of fishes	Catalase activity M ± σ Liver	Catalase activity M ± σ Kidney
1a	*Oncorhynchus keta*, fry	6(1)	89 ± 4	9.8 ± 1.4
1b	ditto, underyearling	11(4)	75 ± 11	23 ± 3
1c	ditto, mature adult	5	87 ± 11	12 ± 2
2	*O. nerka*	1	59	11
3a	*O. masou*, smolt	8	58 ± 5	18 ± 2
3b	ditto, parr	10	64 ± 7	18 ± 4
4	*Salmo irideus*	10	74 ± 16	19 ± 3
5	*Salvelinus malma*	2	69, 94	12, 26
6	*S. fontinalis*	8	86 ± 11	22 ± 4
7	*S. leucomaenis pluvius*	4	86 ± 10	25 ± 3
8a	*Plecoglossus altivelis*	4	67 ± 10	11 ± 2
8b	ditto	4	57 ± 6	11 ± 2
8c	ditto	5	55 ± 8	16 ± 3
9	*Hemibarbus barbus*	4	63 ± 9	1.1 ± 0.2
10	*Pseudogobio esocinus*	4	41 ± 10	1.6 ± 0.6
11	*Pseudorasbora pumila*	12(2)	67 ± 13	4.6 ± 1.7
12	*Zacco platypus*	4	69 ± 22	2.5 ± 0.7
13a	*Tribolodon hakuensis hakuensis*	15	79 ± 16	3.1 ± 1.3
13b	ditto	2	91, 99	2.6, 3.4
14	*Carassius auratus*	5	46 ± 15	2.2 ± 0.4
15	*Cyprinus carpio*	6	97 ± 10	4.1 ± 0.5
16	*Parasilurus asotus*	2	40, 48	2.2, 2.7
17	*Misgurnus anguillicaudatus*	6(1)	49 ± 6	3.8 ± 1.1
18a	*Anguilla japonica*, cultured	8	80 ± 12	0.63 ± 0.22
18b	ditto, river	3	61 ± 9	0.69 ± 0.42
19	*Cottus pollux*	2	32, 52	2.1, 3.4

20	*Hypomesus olidus*	23(3)	64 ± 8	3.5 ± 0.8
21	*H. japonicus*	16(1)	64 ± 9	17 ± 3
22	*Engraulis japonicus*	8	81 ± 8	4.2 ± 1.0
23	*Aulichthys japonicus*	2	13, 21	0.32, 0.40
24	*Hemirhamphus sajori*	4	94 ± 13	4.7 ± 1.8
25	*Trachurus japonicus*	4	81 ± 9	3.1 ± 1.0
26	*Sphaeriodes borealis*	10	16 ± 6	5.9 ± 1.6
27	*S. stictonotus*	5	14 ± 3	4.7 ± 2.0
28a	*Hexagrammos otakii*	6	58 ± 8	18 ± 3
28b	ditto	1	47	17
29	*Ammodytes personatus*	8	88 ± 11	4.8 ± 2.1
30	*Opithocentrus ocellatus*	3	57 ± 8	4.1 ± 1.3
31	*O. zonope*	1	8.0	0.32
32	*Cleisthenes herzensteini*	5	58 ± 9	14 ± 4
33	*Microstomus achne*	4	61 ± 6	20 ± 4
34	*Sphyraena japonica*	1	79	9.0
35	*Lampetra japonica*	5	75 ± 10	23 ± 6

(1) two, (2) three, and (3) seven or eight tissues were combined all to test; (4) two tissues for smaller individuals only.

found to be uniformly low. Such a characteristic appears to be common to this group.

Although the kidney catalase activities of the marine fishes (No's. 22-34) appear to be widely variable, those are distinctly classified into the two types, similar to the types of the typical freshwater and salmonid fishes. If many more species of the marine fishes are examined, such a tendency may become more distinct. Similarly to the smelt above described, two species of the blenny belonging to the same genus (No's. 30 & 31) showed a clear difference of kidney catalase activity.

Catalase activities in various kinds of tissues in fishes

As indicated in Tables 3 and 4, except the blood, the catalase activities of tissues of the gill, stomach and skeletal muscle are much lower than those of the liver and kidney.

Liver. In the majority of the examined fishes, the liver catalase activities range from about 40 to 100. While, in some of the marine fishes, such as cornet fish (No. 23), puffer (No's. 26 & 27) and blenny (No. 31), very low activities were found, ranging from only about 10 to 20. Thus, the two types were also distinctly distinguishable in the activity of this tissue.

Gill, stomach, muscle and blood. The catalase activities of these tissues are low, and show a wide variation respectively. The gill catalase activities of the salmonid fishes appear to be higher than those of the others. However, further studies are necessary to determine exactly such a point. As in the case of the kidney, the

Table 4. Catalase activities of the gill, stomach, muscle and blood in fish

No.	Species	No. of fishes	Catalase activity M ± σ			
			Gill	Stomach	Muscle	Blood
1a	*Oncorhynchus keta*, fry	6(1)	1.18±0.46	0.71±0.05	0.19±0.04	——
1b	ditto, underyearling	11(4)	2.84±0.68	1.59±0.43	0.28±0.10	——
2	*O. nerka*	1	1.29	0.52	0.14	——
3a	*O. masou*, smolt	8	1.94±0.44	1.18±0.31	0.34±0.24	14 ± 3
3b	ditto, parr	10	2.27±1.61	0.93±0.29	0.20±0.13	13 ± 2
4	*Salmo irideus*	10	2.38±1.68	1.02±0.50	0.58±0.40	13 ± 2
8a	*Plecoglossus altivelis*	4	1.37±0.20	1.05±0.21	0.47±0.35	——
8b	ditto	4	2.40±1.41	3.94±1.38	0.12±0.02	——
13b	*Tribolodon hakuensis hakuensis*	2	0.88	0.85	0.19	——
14	*Carassius auratus*	5	0.50±0.18	0.47±0.17	0.11±0.04	2.9± 0.8
17	*Misgurnus anguillicaudatus*	6(1)	1.61±0.30	1.25±0.05	0.16±0.04	——
18a	*Anguilla japonica*, cultured	8	0.48±0.10	0.70±0.24	0.14±0.03	——

(1) & (4), see Table 3.

catalase activity of the gill of the eel is much lower than that of the other fish. The blood catalase activities of the salmonid fishes are, at least, much higher than that of the crucian carp. Regarding the stomach and muscle, no specific characteristics in the catalase activities were detectable. However, that may be due to the unsuitable method of the estimation for these tissues having very low catalase activities.

DISCUSSION

The physiological role of the catalase is still a matter of discussion. However, in addition to the protection of cells from toxic destruction by hydrogen peroxide, its oxidatic function in cells or organisms has been clarified though yet only in outline.[19)~21)] The physiological significance of the tissue catalase also poses a problem that must be studied in the future since they are of much interest.[19)] Consequently, no detailed discussion can here be offered on the physiological significance of the specificity of the kidney catalase activity found in the salmonid fishes and some others, only it may be presumable that some active oxidatic reactions do occur in such a tissue.

It is well known that in most of the animals the tissue catalase activities show the highest value in liver,[19),25)~27)] as was also observed in the present experiment. If this fact offers evidence of some active oxidatic reactions in liver, the same idea may be also applicable to the kidney. That is to say, it may be judged that if the catalase activity of a kidney is comparatively high, the biochemical reactions in the kidney are more active.

In view of the diadromous migrations of the sweetfish and lamprey,[28)] it seems

to be a significant fact that the kidney catalase activities of these fishes are both very high like those of the salmonid fishes. Further, it is noticeable that high activities of the blood lipase have been reported in both of the lamprey and salmon.[9]

If the glomerulus of fish functions like that of mammals, no supply of energy is necessary for its filtration, while much energy might be consumed for salt absorption or excretion in the renal tubules.[29][30] Marine fishes swallow sea water with its contained salts to prevent the loss of body water.[3][16][31]-[33] Consequently, they must eliminate the unwanted salts in some way as rapidly as possible. In most of the marine fishes, the glomerulus has become vestigial.[3][16][17][34] So, in these fishes the renal tubules might accomplish a large part of the salt excretion. It is presumable that very much energy may be consumed by the performance of this function. The same assumption may be applicable to the osmoregulation of diadromous fishes; or, even much more energy may be necessary for these fishes than the marine ones, in adapting to a new environment. In fact, Grafflin[18] has reported that there is no correlation between the structure of the kidney and the ability to adapt to fresh or sea water. Further, Marshall and Grafflin[30] have found an important fact that the active excretion of both organic and inorganic substances is detected in the renal tubules of some marine fishes, against the higher pressure of the ureter.

Possibly, fishes about to migrate from freshwater to sea water might also have previously some physiological and biochemical potentialities capable of maintaining osmotic homeostasis in a new environment. The existence of such potentialities has been repeatedly proved in the biochemical changes of the blood and liver, and in the chloride cells.[1]-[4][13][14] Besides these evidences, changes of the hormonal activities might be also associated with the osmoregulation in fish.[2]-[4,8][35]

However, viewing osmoregulation from the biochemical standpoint, there have been very few findings on the specificity of the kidney in diadromous or euryhaline fishes. In that respect, it may be said that the finding of the existence of the kidney phosphatase in some glomerular and aglomerular fishes has been a stimulating suggestion in this field.[15] The specificity showing a high activity of the kidney catalase seems to suggest also the existence of a high potentiality of osmoregulation in fish. To establish such an assumption, however, it must be substantiated whether catalase and other enzymes of the fish kidney are closely related with the physiological roles of this tissue in conncection with the osmotic homeostasis or not. Further, it must also be clarified why the salmonid fishes including the landlocked forms, parrs and smolts show commonly a high catalase activity in the kidney. For the marine fishes, the reasons for the existence of the two types of kidney catalase activity are obscure.

The kidney catalase activity of the eel was found to be very low. It is noteworthy that this fact agrees with the scantiness of kidney phosphatase in this fish.[15] If

the specificity of the kidney catalase activity is actually associated with the osmoregulation in fish, it is presumable that the osmoregulation of the eel might possibly be porformed by some mechanism different, at least, from that of the salmonid fishes, sweetfish and lamprey.

However, practically it can only be said here that the kidney catalase activity of the salmonid fishes, sweetfish, lamprey and some of the marine fishes is much higher than that of the typical freshwater fishes, and that, on the contrary, that of the eel is extremely low, even in comparison with the latter group.

SUMMARY

To detect some specific characteristics of the kidney in diadromous fishes, the catalase activity of kidney tissue was measured on the salmonid fishes, sweetfish, lamprey, eel and some others, and compared with that of the typical freshwater and marine fishes. Besides the kidney, the catalase activities of tissues of the liver, gill, stomach, white skeletal muscle and of the blood were estimated.

1. Although it is not possible to discuss in detail the results obtained as the physiological significance of the tissue catalase is not clear at present, it was clarified that the kidney catalase activities of the salmonid fishes, sweetfish, lamprey and some of the marine fishes are much higher than those of the typical freshwater fishes, while that of the eel is extremely low, even comparing with the latter group.

2. Except the eel, the kidney catalase activities of the typical freshwater fishes are low, showing no marked differences among the species. Those of the marine fishes appear to be highly variable, but they are distinctly classified into two types, just as similar to the types of the typical freshwater and salmonid fishes above described.

3. On the liver catalase activities, similarly the two types, high and low, were distinctly discriminated. Generally, those of the marine fishes are widely variable, and the low type of activity was found only in some of this group.

4. The gill catalase activities of the salmonid fishes appear to be higher than those of the other fishes, while that of the eel gill is much lower, like the kidney. The blood catalase activities of the salmonid fishes are, at least, much higher than that of the crucian carp.

5. From the view point of the osmoregulation in fish, some assumptions were offered on the high catalase activity in the kidney of the diadromous fishes.

LITERATURE CITED

1) Fontaine, M. (1948). Du rôle joué par les facteurs internes dans certaines migrations de poissons: Etude critique de diverses méthodes d'investigation. *Jour. Conseil* **15**, 284-294.

2) Hoar, W. S. (1951). Hormones in fish. *Univ. Toronto Stud. Biol.* **59**; *Pub. Ontario Fish. Res. Lab.* **71**, 1-51.

3) Black, V. S. (1951). Osmotic regulation in teleost fishes. *ibid*. 53-89.

4) Hoar, W. S. (1953). Control and timing of fish migration. *Biol. Rev*. **28**, 437-452.

5) Fontaine, M. & Leloup, J. (1950). L'iodémie du jeune saumon (*Salmo salar* L.) en eau douce. *C. R. Acad. Sci*. **231**, 169-171.

6) Lovern, J. A. (1934). Fat metabolism in fishes. V. The fat of the salmon in its young freshwater stages. *Biochem. Jour*. **28**, 1961-1963.

7) Kubo, T. (1953). On the blood of salmonid fishes of Japan during migration. I. Freezing point of blood. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ*. **4**, 138-148. (in Japanese).

8) Hoar, W. S. (1952). Thyroid function in some anadromous and landlocked teleosts. *Trans. Roy. Soc. Canada* **46**, Ser. 3, Sec. 5, 39-53.

9) Fontaine, M. &. Callamand, O. (1949). La lipase sérique du saumon (*Salmo salar* L.) à diverses etapes de son development et de ses migrations. *Bull. Inst. Océanogr. Monaco* 944; La lipase sérique chez un Cyclostome (*Petromyzon marinus* L.) et divers poissons teleosteens. *ibid*. 943. (after *Biol. Abstr*. **26**, 1860).

10) Baldwin, E. (1940). *An introduction to comparative biochemisty*. 2nd. Ed. London, Cambridge Univ. Press.

11) Keys. A. B. & Willmer, E. N. (1932). "Chloride secreting cells" in the gills of fishes, with special reference to the common eel. *Jour. Physiol*. **76**, 368-378.

12) Copeland, D. E. (1948). The cytological basis of chloride transfer in the gills of *Fundulus heteroclitus*. *Jour. Morph*. **82**, 201-228.

13) Nishida, H. (1953). The cyto-histological observations on the gland cell of the branchial epidermis with the comparison of two types of *Oncorhynchus masou*, land-locked and sea-run form. *Sci. Repts. Hokkaido Fish Hatch*. **8**, 33-37. (in Japanese).

14) Burn, J. & Copeland, D. E. (1950). Chloride excretion in the head region of *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull*. **99**, 381-385.

15) Browne, M. J., Pitts, M. W. & Pitts, R. F. (1950). Alkaline phosphatase activity in kidneys of glomerular and aglomerular marine teleosts. *ibid*. **99**, 152-156.

16) Smith, H. W. (1932). Water regulation and its evolution in the fishes. *Quart. Rev. Biol*. **7**, 1-26.

17) Marshall, E. K. Jr. & Smith, H. W. (1930). The glomerular development of the vertebrate kidney in relation to habitat. *Biol. Bull*. **59**, 135-153.

18) Grafflin, A. L. (1937). The problem of adaptation to fresh and salt water in the teleosts, viewed from the standpoint of the structure of the renal tubules. *Jour. Cell. Comp. Physiol*. **9**, 469-475.

19) Theorell, H. (1952). *The iron-containing enzymes. B. Catalases and peroxidases. "Hydroperoxidases"*. The enzymes, II, 2. Sumner, J. B. & Myrbäck, K. Academic Press Inc. N. Y.

20) Chance, B. (1952). *The iron-containing enzymes. C. The enzyme-substrate compounds and mechanisms of action of the hydroperoxidases. ibid*.

21) Egami, F. & Murakami, E. (1947). On the physiological function of catalase. *Jour. Chem. Soc. Japan* **68**, 50-51. (in Japanese).

22) Green, J. W. & Hoffman, J. F. (1953). A study of isotonic solutions for the erythrocytes of some marine teleosts and elasmobranchs. *Biol. Bull*. **105**, 289-295.

23) Sekiguchi, A. (1953). Studies on the catalase activity of red cell suspension. 1. Red blood cell

suspension as an enzyme solution. *Jour. Physiol. Soc. Japan* **15**, 357-367. (in Japanese).

24) Hamada, K. (1954). Revision of *Hypomesus olidus* (*Pallas*) and *Hypomesus japonicus* (*Brevoort*) of Hokkaido, Japan. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **4**, 256-261.

25) Battelli, F. & Stern, L. (1910). Die Katalase. *Ergeb. Physiol.* **10**, 531-595.

26) Zieger, R. (1915). Zur Kenntnis der Katalase der niederen Tiere. *Biochem. Zeitschr.* **69**, 39-110.

27) Kobayashi, K. & Sirakami, K. (1949). On the ratio of the catalase activity of the dorsal and ventral skin of Japanese common frog. *Zool. Magaz.* **58**, 185-186. (in Japanese).

28) Sato, S. (1951). Studies on the lampreys of Hokkaido. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **1**, 54-62. (in Japanese).

29) Kubo, M. (1950). Kidney. Seiri-Gaku Koza. [Physiol. Ser.], Physiol. Soc. Japan. (in Japanese).

30) Marshall, E. K. Jr. & Grafflin, A. L. (1928). The structure and function of the kidney of *Lophius piscatorius*. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **43**, 205.

31) Keys, A. B. (1933). The mechanism of adaptation to varying salinity in the common eel and the general problem of osmotic regulation in fishes. *Proc. Roy. Soc.* (London), B, **112**, 184-199.

32) Grafflin, A. L. & Ennis, D. (1934). The effect of blockage of the gastro-intestinal tract upon urine formation in a marine teleost, *Myxocephalus octodecimpinosus*. *Jour. Cell. Comp. Physiol.* **4**, 283-296.

33) Grafflin, A. L. (1938). The absorption of fluorescin from fresh water and salt water by *Fundulus heteroclitus*, with the fluorescence microscope. *ibid.* **12**, 167-170.

34) Marshall, E. K. Jr. (1934). The comparative physiology of the kidney in relation to the theories of renal secretion. *Physiol. Rev.* **14**, 133-159.

35) Keys, A. & Bateman, J. B. (1932). Branchial responses to adrenaline and pitressin in the eel. *Biol. Bull.* **63**, 327-336.

HANDY UNDERWAY PLANKTON CATCHERS

Sigeru MOTODA
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

There have been developed several underway plankton samplers,[1–11] some of them being very excellent and applicable to simultaneous serial tow at different depths, and others being capable of use for continuous recording of plankton distribution. Notwithstanding, at present, such simple apparatuses as those presented here are felt to be conveniently useful for researchers and fishermen who desire to take plankton sample from their boat while underway by handling manually with ease.

The present samplers are originally designed to use for sampling the plankton of surface water, but the deep tow, if desired, may be possible by installation of diving plane such as that equipped on the Hardy Plankton Indicator[1] or by use of Reed & Stewart's mahogany depressor[12] or Isaac's bronze depressor.[7] In the deep tow, however, the depressing force produced by such devices results in so great cable tension, that a robust cable and powerful winch may be necessary in towing and retrieving the samplers.

Although comprehensive test tows with the present underway catchers have not yet been performed, and, therefore, statistical analysis of the method can not be presented, the possibility of catching of the surface plankton while underway was revealed by the results of a few experiments.

Underway Plankton Catcher Model 1

(figs. 1A, 2A)

The apparatus consists of a narrow brass cylinder, 53 cm in length and 5 cm in diameter, which bears four posterior fins, and tapering head-piece made of solid brass metal, 15 cm in length, which is screwed into the cylinder. A narrow net, made of fine Japanese bolting silk, XX 13; 129 meshes a linear inch, with about 0.0053 mm^2 of mesh aperture, is inserted inside. Two holes, each having 14 mm diameter, are pierced on the two opposite sides of the head-piece, and they are united to one hole, 20 mm in diameter, which opens toward the inside of the cylinder. The ratio of sectional area of the united hole (3.14 cm^2) to the total area of the gauze is about 1 : 114, and to the total area of the mesh apertures of the gauze it measures about 1 : 16.

Barnes[13] experimented with the Hardy Plankton Indicator, finding that the machine, of which the ratio of mouth opening to area of filtering gauze (not the area of total mesh apertures) is 1 : 6, catches the sample at a speed of 8 knots more efficiently than the machine, of which the ratio is 1 : 4, but that the same amount of catch is obtained whether the ratio is 1 : 6 or 1 : 30; that is the ratio 1 : 6 is

sufficient for filtering the theoretical quantity of water.

Total weight of the apparatus assembled is 4 kg. While underway water flows into the two holes on the head-piece and is introduced into the net, outflowing from the terminal opening of the cylinder. The plankton sample retained in the net is removed by releasing the cork of the terminal bucket of the net, leaving the assemblage of the apparatus just as it is unless the meshes of the net clog with the retained matter.

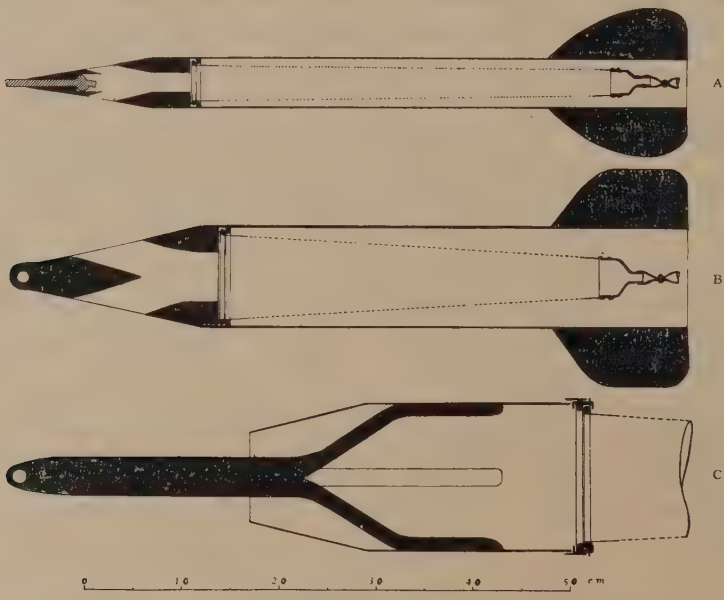


Fig. 1. Sectional view of underway plankton catcher, model 1 (A), model 2 (B) and underway fish-larva catcher (C)

Since the warp (using cotton log line) is introduced from a narrow hole, 8 mm in diameter, at the top of the tapering head-piece, there is least fluid resistance, the cable tension being only about 2 kg at 8.5 knots and about 8 kg at the speeds up to 14.7 knots.

By an experiment made off Nagasaki in November, 1952, at night, about 9 cc (in settled volume) of diatoms, 47 small copepods and 5 other animals were sampled by a 15 minute tow at 10 knots.

Underway Plankton Catcher Model 2

(figs. 1B, 2B)

This apparatus is in general similar in construction to the catcher, model 1, but of larger dimensions. The cylinder is 50 cm in length and 10 cm in diameter, and

the head-piece is 20 cm in length. The holes on the two opposite sides of the head-piece are 36 mm in diameter, these being united to a hole, 50 mm in diameter (19.6 cm^2 of sectional area). Inserted net is made of coarse Japanese bolting silk, GG 32, *i. e.*, 31 meshes a linear inch, with about 0.285 mm^2 of mesh aperture, or made of GG 56, *i. e.*, 54.5 meshes a linear inch, with about 0.096 mm^2 of mesh aperture. The ratio of the sectional area of the hole to the total area of the gauze is 1 : 37, and to the total area of the mesh apertures of the gauze is about 1 : 16. (The same ratio in both kinds of gauze). The assembled apparatus weighs 8.4 kg.

The flow-meter, which rotates corresponding to the inflow of the water, may readily be attached behind the apparatus, though it is not installed at present. It has been developed in Japan by Mr. Zinziro Nakai of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, under the same principle as the Atlas Current Meter.[7]

The warp is shackled at the top of the head-piece. Test tows showed that the cable tension was about 10 kg at 8.5 knots and about 18 kg at 14.7 knots, respectively.

The present catcher is designed to use for retaining the comparatively large agile plankton animals which may possibly be caught by high speed tow. It was surprising that by test tows a considerable number of such agile animals as euphausiids and large copepods were captured in good condition. For examples, 140 euphausiids, 440 large *Calanus*, 13 *Themisto*, 22 *Sagitta* and 3 *Aglantha* were captured by a 30 minute tow at 8.5 knots at night in April, 1954, eastern outside of the Tsugaru Strait and 320 euphausiids, 40500 large *Calanus*, 9220 small calanoids, 510 *Themisto* and 1080 *Sagitta* by a 37 minute tow at 8 knots at night in June, 1954, in the Ishikari Bay.



Fig. 2.

A: Underway plankton catcher, model 1
B: Underway plankton catcher, model 2
C: Underway fish-larva catcher

Underway Fish-Larva Catcher
(figs. 1C, 2C)

This apparatus is differently constructed from the above two. It consists of an iron fore-piece and conical net behind. The fore-piece is itself a cylinder, 23 cm in length and 15 cm in diameter, and tapering collar, 12 cm in length, anteriorly. From the inside of the cylindrical part of the fore-piece an iron rod, 5 cm in diameter, is stretched out until it extends 25 cm beyond the edge of the tapering collar. The warp is shackled at the anterior end of this iron rod. As the diameter of the edge of the collar is 9 cm, there remains a circular opening which allows the water to

enter, the area of the opening corresponding to 42 cm.^{2} The net attached behind the fore-piece is about 1 m long, and made of stramin or coarse bolting silk. The ratio of the area of the anterior circular opening to the total area of the net is about 1:45.

Total weight of the apparatus is 9 kg, and the cable tension when towed at a speed of 8.5 knots measures about 20 kg.

In a test tow at night western outside of the Tsugaru Strait in May, 1953, although the fish larvae were not found in collection in this time, 8 euphausiids, 9100 large *Calanus*, 19 *Euchaeta*, 15750 *Metridia*, 240 *Themisto*, 2 brachyuran larvae and 118 *Sagitta* were obtained by a 50 minute tow at 8.5 knots.

The author is much indebted to the captains and crew of the vessels, the Training Ships of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University, "Oshoro Maru" and "Hokusei Maru," the Ferry Steamer, "Taisetsu Maru," between Hakodate and Aomori, and the fishing boat "Chofuku Maru," for their helpful cooperation in performing the test tows. His thanks are also offered to Mr. Masateru Anraku for invaluable help during the work.

References

1) Hardy, A. C. (1925). The herring in relation to its animate environment. Part II. Report on trials with the plankton indicator. *Min. Agr. Fish., London, Fish. Invest. Ser.* II, **8** (7), 1-13.

2) ―――――― (1935). The continuous plankton recorder: A new method of survey. *Rapp. Proc.-Verb. Reunions* (95), 36-47.

3) ―――――― (1936). The ecological relation between the herring and the plankton investigated with the plankton indicator. Part I. The object, plan and methods of the investigation. *Jour. Mar. Biol. Ass. N. S.* **21** (1), 147-177.

4) ―――――― (1936) The continuous plankton recorder. *Discovery Rep.* **11**, 457-510.

5) ―――――― (1944). Explanation: A non-technical account of contents of the volume for the general reader, intended to show the bearing of the work upon the future welfare of the fishing industry. *Hull Bull. Mar. Ecol.* **1** (1), vii-xlii.

6) Tester, A. L. & Stevenson, J. C. (1949). Results of the west coast of Vancouver Island herring investigation, 1947-48. *Rep. Brit. Columb. Dept. Fish.*, 1947, 4-86.

7) *California Cooperative Sardine Research Program, Progress Report* (1950).

8) Arnold, E. L. (1952). A high speed plankton sampler (Model Gulf I-A). *U. S. Dept. Int. Fish Wildlife Serv., Spec. Sci. Rep. Fisheries* (88), 1-6.

9) Gehringer, J. W. (1952). An all-metal plankton sampler (Model Gulf III). *Ibid.* (88), 7-12.

10) Glover, R. S. (1953). The Hardy plankton indicator and sampler: A description of the various models in use. *Bull. Mar. Ecol.* **4** (26), 7-20.

11) Motoda, S. (1953). New plankton samplers. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Uuiv.* **3** (3), 181-186.

12) Reed, D. G. & Stewart, T. (1949). A streamline cable depressor. *Jour. Mar. Res.* **8** (3), 226-236.

13) Barnes, H. (1951). A statistical study of the variability of catches obtained with two models of the Hardy plankton indicator. *Hull Bull. Mar. Ecol.* **2** (16), 283-293.

STUDIES ON THE MANUFACTURE OF CANNED MACKEREL

Part VII. The Relation between the Freshness Degree of Raw Mackerel Meat and the Quality of Canned Boiled Mackerel

Eiichi TANIKAWA and Tadao YAGI
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

It is desirable to know the relation between the freshness of raw mackerel and the quality of the canned product. The authors have recently studied the relation between the freshness of raw saury (*Cololabis saira* (*BREVOORT*))[1] or crab (*Erimacrus isenbeckii* (*BRANDT*))[2] and the quality of the canned products, and made particular scales showing the relationship. The authors have this time studied the relation between the freshness of raw mackerel (*Scomber japonicus HOUTTUYN*) and the quality of canned boiled mackerel.

I. The decomposition velocity constant, temperature constant and temperature coefficient of mackerel meat

1. Sample and experimental method

Several mackerel which were caught off the shore of Kushiro were skinned and boned and then crushed through the chopper and homogenized by the Waring Blendor. The crushed mackerel meat was used as samples.

The amount of volatile base nitrogen of the sample was 9.76 mg%, amino acid nitrogen was 0.159%, total nitrogen was 3.42%, and pH value was 6.0.

The crushed mackerel meat was put in several wide-mouthed bottles, and each bottle was placed aerobically at 15°, 25°, 35° and 45°C (each temperature ± 2°C). After each of several definite periods, the amount of volatile base nitrogen and the pH value of the each sample were determined. The determination of the amount of the volatile base nitrogen was made by Weber-Wilson's method.

From the results obtained, the bacterial decomposition velocity constant (the volatile base producing velocity constant), temperature constant and temperature coefficient were calculated by the same manner used for saury meat[1] and crab meat.[2]

2. Experimental results

Experimental results obtained are shown in Table 1.

From Table 1, the relation between the produced amount of the volatile base nitrogen and storing time (hrs.) is shown in Fig. 1.

Table 1. The variation of the amount of volatile base nitrogen and pH values when the crushed mackerel meat was placed at different temperatures

leaving time (hrs)	at 15°C		at 25°C		at 35°C		at 45°C	
	pH	volatile base-N(mg%)	pH	volatile base-N(mg%)	pH	volatile base-N(mg%)	pH	volatile base-N(mg%)
0	6.0	9.76	6.0	9.76	6.0	9.76	6.0	9.76
5	6.0	11.24	6.1	13.12	6.1	20.41	6.1	25.59
10	6.0	9.47	6.1	24.57	6.1	48.52	6.1	70.41
15	6.0	12.72	6.1	67.52	6.2	131.75	6.2	213.45
20	6.1	12.51	6.4	125.57	6.6	232123	6.6	332.04
25	6.1	13.31	7.0	155.00	6.8	250.87	6.8	340.11
30	6.1	14.02	7.2	187.61	6.8	275.36	6.8	379.47
40	6.2	16.27	6.8	231.43	7.2	308.91	7.4	318.62
45	6.2	18.00	6.7	204.89	6.7	285.22	7.0	376.67
60	6.4	20.18	6.7	233.93	6.7	302.40	7.0	353.29
70	6.6	25.15	6.6	238.21	6.6	343.09	7.0	384.80
80	6.4	55.04	6.8	222.51	6.6	302.43	6.8	390.14
95	6.6	94.67	6.8	218.42	6.8	328.92	6.8	383.11
110	6.8	146.73						
120	6.6	187.56						
130	6.5	235.22						
145	6.6	261.61						
160	6.8	260.59						
170	6.8	257.78						
180	6.6	265.43						

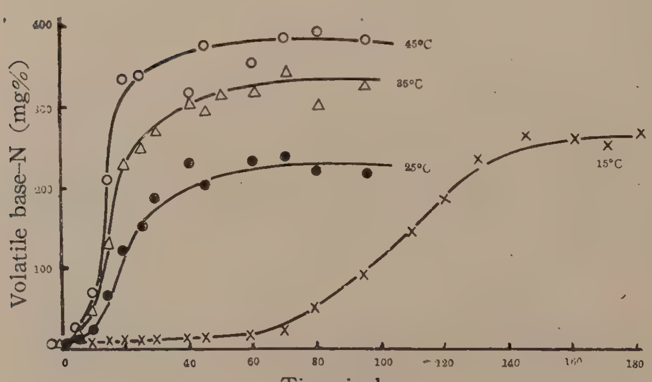


Fig. 1. The variation of the amount of volatile base nitrogen when the crushed mackerel meat was placed at different temperatures.

As seen in Table 1 and Fig. 1, the bacterial decomposition velocity of the mackerel meat is rapid with the rising of temperature within the experimental temperatures, therefore the amount of volatile base nitrogen from the samples stored at 45°, 35° and 25°C respectively become larger with the lapse of time until 20

hrs of storing period, and reached equilibrium after 50 hrs or 60 hrs. At 15°C, the time until which the amount of volatile base nitrogen attained equilibrium was about 160 hrs. The amounts of the volatile base nitrogen at equilibrium were considered to be 266 mg% at 15°, 237 mg% at 25°, 336 mg% at 35° and 377 mg% at 45°C respectively.

From Fig. 1, the relation between the storing time (hrs) and the values of "log $\frac{y}{A-y}$" corresponding to the storing time was plotted as shown in Fig. 2. The relation between "t" and the values of "log $\frac{y}{A-y}$" is linear. Of course, the value of the bacterial decomposition velocity constant, K, is shown as the degree of the declination of the straight line.

In the case of the sample stored at 15°C the straight line is one, but in the cases of the samples stored at 25 , 35° and 45°C respectively, the straight lines were broken into two parts as shown in Fig. 2.

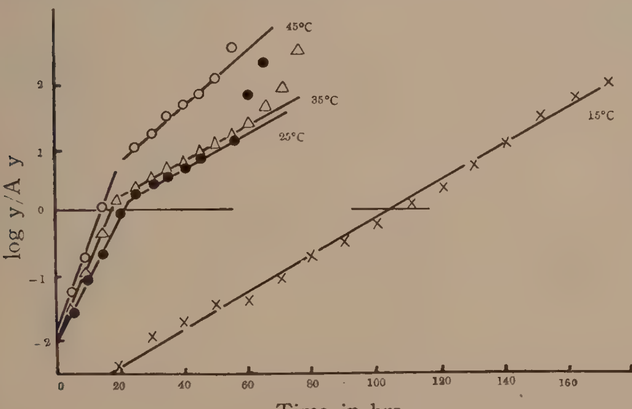


Fig. 2. The relation between the values "log $\frac{y}{A-y}$" and time "t"

Here, if K_1 is the bacterial decomposition velocity constant of the first stage of the broken line, and K_2 is the second stage, respectively, these values are shown in Table 2.

As seen in Fig. 2 and Table 2, in the case of the storing of the sample at 45°C, the value of $K_1 \times 10^4$ shows 1340 until 20 hrs' storing, but it decreases to 450 after 20 hrs. This fact agrees with the case of storing at 35° or 25°C, that is to say, the value of $K_1 \times 10^4$ shows 1140 at 20 hrs, and the value of $K_2 \times 10^4$ shows 310 after 20 hrs. In the case of storing of the sample at 25°C, the value of $K_1 \times 10^4$ shows 22 at the initial storing period, and 990 after 3 hrs, but the value of $K_2 \times 10^4$ shows 320. The value of K_1 is smaller than the value of K_2. However, in the case of storing of the sample at 15°C, the value of $K_1 \times 10^4$ shows 300 within the period

Table 2. The bacterial decomposition velocity constants of crushed mackerel meat at different temperatures

t°C	$K_1 \times 10^4$	$K_2 \times 10^4$
45	1340	450
35	1140	310
25	990	320
15	300	300

from 20 hrs to 170 hrs. At the initial storing period, the bacterial decomposition velocity increases with the rising of temperature, and the higher the temperature, the shorter is time for reaching equilibrium. The time at which the reaction is half completed is 14 hrs at 45°C, 17 hrs at 35°C, 21 hrs at 25°C, 106 hrs at 15°C, that is to say, the higher the temperature, the shorter is the time.

The values of temperature constant (B) and temperature coefficient (Q_{10}) of mackerel meat were calculated as to K_1 and K_2. The results obtained are shown as Tables 3 and 4 or Figs. 3 and 4. That is to say, the relation between "log K" of the

Table 3. The relation between the values "I/T" and "log K_1"

t°C	$K_1 \times 10^4$	T	1/T	logK_1
45	1340	318	0.003145	3.1271
35	1140	308	0.003247	3.0569
25	990	298	0.003356	2.9956
15	300	288	0.003472	2.4771

Table 4. The relation between the values "1/T" and "log K_2"

t°C	$K_2 \times 10^4$	T	1/T	logK_2
45	450	318	0.003145	2.6532
35	310	308	0.003247	2.4914
25	320	298	0.003356	2.5051
15	300	288	0.003472	2.4771

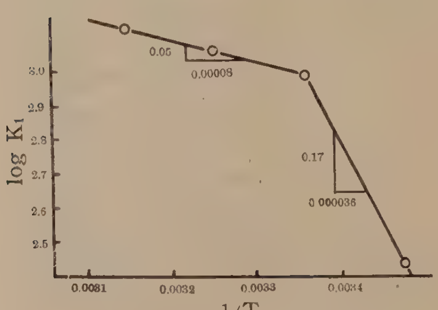


Fig. 3. The relation between the values "1/T" and "log K_1"

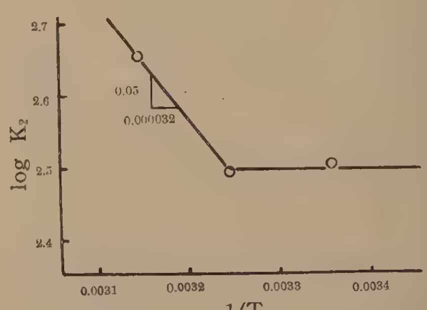


Fig 4. The relation between the values "1/T" and "log K_2"

values of $K_1 \times 10^4$ and $K_2 \times 10^4$ and reciprocal of absolute temperature of the storing temperature shows as a line, and from the degree of the dencliation of the straight line, the values of temperature constant (B) and temperature coefficient (Q_{10}) were calculated. The lines of "$K_1 \times 10^4$" and "$K_2 \times 10^4$" are divided into two stages as a boundary of 25° and 30°C respectively. Therefore, in the case of "$K_1 \times 10^4$," the value of (B) is 2856 and of "Q_{10}" is 1.17 above 25°C, and (B) is 21583, "Q_{10}" is 3.55 below 25°C. From those results, the bacterial decomposition velocity of mackerel meat becomes 1.17 times with each rising of 10°C of the storing temperature above 25°C, and the velocity becomes 3.55 times with each rising of 10°C of the temperature below 25°C.

II. A particular scale showing the relation between the storing temperature and maximum storing time

1. The lowest limit of freshness degree of mackerel meat as suitable raw material for canned boiled mackerel

After catching of mackerel, the freshness of the meat falls with the lapse of time at comparatively high room temperatures. Even if the unfresh meat is skilfully packed and processed, the quality of the canned products is not good. There must be the lowest limit of freshness of the meat. The senior author, Tanikawa,[3] has formerly suggested 30 mg% of the volatile base nitrogen in the fish meat as the index of the incipient putrefaction. But the lowest limit of freshness of the fish meat as suitable raw material for the canned products must be more fresh than the point of incipient putrefaction.

Here, samples of mackerel meat of different stages of freshness were obtained by placing them at room temperature and the degree of freshness was determined by the estimation of the amount of the volatile base nitrogen according to Weber and Wilson' s method. Those samples of different stages of freshness were packed and processed and the cans were opened after 4 weeks' incubation at 37°C.

The processing of the canned mackerel was as follows: Mackerel meat was immersed in NaCl solution of Bé 15° for 30 minutes. After immersion the meat was packed in cans. Can type used was flat No. 2 can (a half pound). Net weight was 240 g. Exhausting time was 10 minutes at 100°C. The sterilizing time was 1.5 hrs at 235°F.

The results of the estimations after opening of the cans are shown in Table 5.

Table 5. The qualities of canned mackerel made from raw material which were of various degrees of freshness

Raw material			Results of canned mackerel after opening									Grade of quality
leaving time (hrs)	volatile base-N (mg%) (freshness)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	vacuum (inch)	odor	color	taste	juice	curd	hardness	
0	9.76	5.9	23.12	meat 6.1 juice 6.3	7	good	good	good	trans-parent	++	+++	splendid
14	15.32	6.0	30.39	6.1 6.2	8	〃	〃	〃	trans.	+	++	good
18	18.71	6.1	32.68	6.2 6.2	8	fair	〃	〃	trans.	±	++	〃
21	21.45	6.1	32.51	6.2 6.2	10	〃	slight pink	fair	slight pale	±	++	fair
23	23.47	6.1	36.09	6.2 6.2	9	slight smell	slight pale	slight poor	slight turbid	±	+	poor
25	24.08	6.1	38.84	6.2 6.2	6	stale	poor	poor	turbid	±	+	〃

As seen in Table 5, the amount of volatile base nitrogen of the mackerel meat

was about 20 mg% at the lowest limit of the freshness as raw material for the canned product. This conclusion agreed with the results which were obtained from the experiments using for saury meat[1] and crab meat.[2]

2. The maximum storing time of mackerel meat as raw material for the canned product

It was known that mackerel meat must be handled and processed below about 20 mg% of volatile base nitrogen as the index of the freshness, for the sake of making of good quality of canned mackerel.

Here, the maximum time until which the amount of volatile base nitrogen of the sample reaches to about 20 mg% at different temperatures is obtained from Fig. 1 and shown in Table 6.

Table 6. The time until which the amount of volatile base nitrogen reaches to 20 mg% in the crushed mackerel meat at different temperatures

leaving temp.	15°C	25°C	35°C	45°C
t_{20} (hrs)	53.5	8.5	5.0	3.5

The results shown in Table 6 were data concerning the crushed mackerel meat stored aerobically at different temperatures. Those data may be different from actual conditions in commercial canning process. Here, the fresh mackerel bodies (volatile base nitrogen was 9.58 mg%, amino acid nitrogen 0.108 %, pH 6.1) were placed aerobically at 10°, 25°, 35° and 45°C (± 1°C), and the time, "t_{20}", until which the amount of volatile base nitrogen reaches to about 20 mg% was determined by using back meat of fish bodies as shown in Fig. 5. The values of "t_{20}" obtained were shown in Table 7.

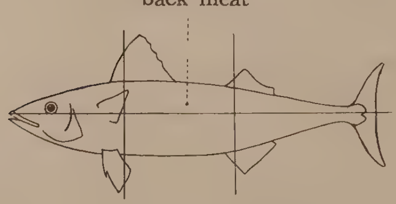


Fig. 5.

Table 7. The time until which the amount of volatile base nitrogen reaches to 20 mg% in meat of mackerel bodies at different tempeatures

leaving temp.	10°C	25°C	35°C	45°C
t_{20} (hrs)	65.5	11.0	7.0	5.5

The relation between the value of "t_{20}" and the corresponding storing temperature is shown in Fig. 6. The relation between the values of "log t_{20}" and the corresponding storing temperature is shown in Fig. 7.

As seen in Fig. 7, the straight line showing the relation between the values of "log t_{20}" and the corresponding storing temperatures is broken into two parts at the point of 25°C. The reason for this is the fact that the values of "Q_{10}" are divided into 1.17 and 3.55 at the point of 25°C.

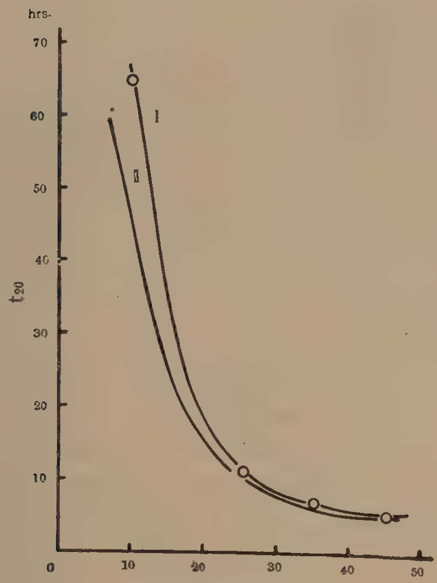


Fig. 6. The relation between the values "t_{20}" and storing temperature

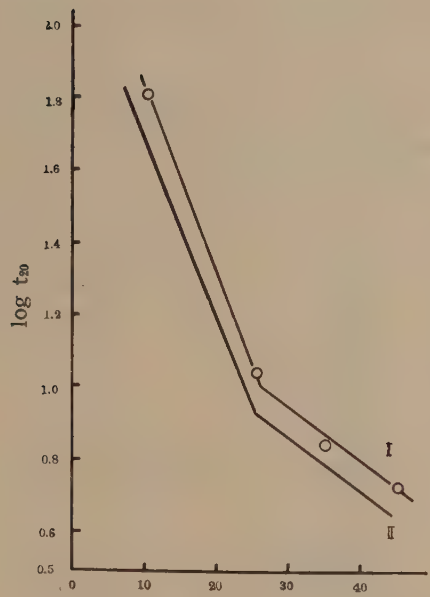


Fig. 7. The relation between the values "log t_{20}" and storing temperature

The lines shown in Fig. 7 are expressed by equation (1).

$$\log t_{\theta} = \alpha - \beta\theta \quad \cdots\cdots\cdots\cdots(1)$$

Here, α and β are constants.

In the actual process of making canned mackerel, large quantities of fish bodies are handled, therefore the contamination or damage of fish bodies happens sometimes, and the processing time is sometimes prolonged. Also fish bodies which are different in the freshness of the meat are sometimes carried into the cannery. Those factors concerning the freshness of fish bodies must be considered in determining the maximum safe storing time.

The authors suggest period of 10 hrs at 15°C as a safe time as shown by curve II in Fig. 6 and the straight line II in Fig. 7.

3. Making of a particular scale showing the relation between the storing temperatures and the corresponding maximum storing time

By using equation (1) the constant values of α and β of the straight line II in Fig. 7 are obtained and shown in Table 8.

Table 8. Values of α and β

temp.		α	β
belew	25°C	2.14	0.048
above	25°C	1.39	0.017

When the values of α and β are replaced

into equation (1), the following equations are obtained.

$$\text{below } 25^\circ\text{C}: \quad \log t_{20} = 2.14 - 0.048\theta \quad \cdots\cdots (2)$$

$$\text{above } 25^\circ\text{C}: \quad \log t_{20} = 1.39 - 0.017\theta \quad \cdots\cdots (3)$$

From Fig. 7 and equations (2) and (3), a particular scale showing the relation between the storing tempratures and corresponding maximum storing time can be set up as shown in Fig. 8.

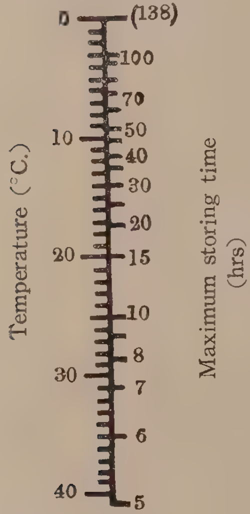


Fig. 8. The relation between the storing temperature and the maximum storing time

For example, it may be seen from Fig. 8 that if the room temperature of the cannery is 20°C, the mackerel must be handled and packed in cans and the sterilization started within 15 hrs.

4. Detection of reliability of the particular scale

In order to ascertain the reliability of this particular scale, experiments in the practical canning course were made. Fresh mackerel (volatile base nitrogen 10.06 mg%, amino acid nitrogen 0.085 %, pH 5.9) were stored at 8°, 20°, 30° and 37°C (± 1°C) to cause different stages of freshness, and then the stored mackerel bodies were handled and packed in cans and sterilized respectively after the different known storing times.

The processing of canned mackerel was the same as the above described method.

When those cans were opened, the results obtained are as shown in Table 9 to Table 12.

Table 9. The quality of canned mackerel made from raw material which was left at 37°C (± 1°C)

Raw material			Results of canned mackerel after opening									Grade of quality
leaving time (hrs)	volatile base-N (mg%) (freshness)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	vacuum (inch)	odor	color	taste	juice	curd	hardness	
0	10.06	5.9	22.48	meat 6.1 juice 6.2	7	good	good	good	trans-parent	++	+++	splendid
4.0	16.12	6.0	30.56	6.2 6.2	10	fair	fair	〃	〃	++	++	good
5.0	17.87	6.0	32.40	6.1 6.2	8	〃	〃	fair	〃	++	++	〃
6.0	19.61	6.2	36.24	6.1 6.2	6	〃	〃	〃	〃	+++	+	〃
7.0	21.01	6.0	35.10	6.1 6.2	8	slight smell	〃	〃	slight turbid	++	+	fair
8.0	23.87	6.0	39.96	6.2 6.2	6	slight smell	slight pink	slight poor	turbid	++	+ skin out	poor
9.0	27.33	6.1	43.56	6.2 6.3	10	stale	pale	slight poor	〃	++	+ skin out	〃

Table 10. The quality of canned mackerel made from raw material which was left at 30°C (± 1°C)

Raw material			Results of canned mackerel after opening									Grade of quality
leaving time (hrs)	volatile base-N (mg%) (freshness)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	vacuum (inch)	odor	color	taste	juice	curd	hardness	
0	10.06	5.9	22.48	meat 6.1 juice 6.2	7	good	good	good	trans-parent	++	+++	splendid
5	16.21	5.9	32.76	6.1 6.2	5	fair	fair	〃	〃	++	++	good
6	18.22	6.0	28.15	6.2 6.2	7	〃	〃	〃	〃	+	++	〃
7	18.92	6.0	33.02	6.1 6.2	7	〃	〃	〃	〃	++	++	〃
8	19.56	6.1	30,33	6.2 6.3	5	〃	slight poor	fair	〃	±	++	fair
9	21.15	6.1	28.67	6.3 6.4	12	〃	〃	〃	slight turbid	±	++ slight skimmed	poor
10	22.63	6.1	29.86	6.2 6.3	8	slight smell	〃	slight pale	〃	++	++	〃
11	24.11	6.1	36.47	6.1 6.3	10	slight smell	poor	〃	〃	+	+	〃
12	23.99	6.1	39.79	6.2 6.3	10	stale	〃	〃	turbid	±	+ skimmed	〃
13	25.14	6.1	41.91	6.2 6.3	10	〃	〃	〃	〃	+	+	〃

Table 11. The quality of canned mackerel made from raw material which was left at 20°C (± 1°C)

Raw material			Results of canned mackerel after opening									Grade of quality
leaving time (hrs)	volatile base-N (mg%) (freshness)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	vacuum (inch)	odor	color	taste	juice	curd	hardness	
0	10.06	5.9	22.48	6.1 6.2	7	good	good	good	trans-parent	++	+++	splendid
13	14.56	6.0	23.76	6.1 6.2	8	fair	〃	〃		++	+++	〃
14	15.32	6.0	30.54	6.1 6.1	5	〃	fair	〃		+	++	good
15	17.11	6.0	28.31	6.2 6.2	8	〃	〃	fair		+	++	〃
16	18.49	6.1	32.70	6.2 6.2	9	〃	〃	〃	slight turbid	±	++	〃
17	20.19	6.1	34.39	6.2 6.2	10	slight smell	slight pink	〃		±	++	fair
18	21.45	6.1	29.85	6.2 6.3	6	〃	〃	〃		±	++	〃
19	22.62	6.1	37.56	6.2 6.3	10	〃	〃	slight poor		±	+	poor
20	23.22	6.1	38.01	6.2 6.2	9	stale	〃	〃		±	+ skimmed	〃
21	23.12	6.1	35.82	6.2 6.2	10	〃	〃	〃		+	+ skimmed	〃
22	24.14	6.1	40.73	6.2 6.3	6	〃	pale	〃		±	+	〃

Table 12. The quality of canned mackerel made from raw material which was left at 8°C (± 1°C)

Raw material			Results of canned mackerel after opening										Grade of quality
leaving time (hrs)	volatile base-N (mg%) (freshness)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	vacuum (inch)	odor	color	taste	juice	curd	hardness		
0	10.06	5.9	22.48	6.1 6.3	7	good	good	good	trans-parent	++	+++		splendid
60	13.98	5.9	27.52	6.0 6.1	5	fair	〃	〃	〃	+	+++		〃
65	14.86	5.9	30.11	6.1 6.1	6	〃	fair	〃	〃	±	++		good
70	15.11	6.0	29.83	6.1 6.1	6	〃	〃	〃	slight colored	+	++		〃
75	18.65	6.0	36.77	6.1 6.2	10	〃	〃	fair	slight turbid	±	++		fair
80	21.10	6.0	39.51	6.1 6.2	6	slight smell	slight colored	〃	〃	±	++		poor
83	22073	6.1	38.02	6.1 6.2	6	〃	slight pink	〃	turbid	±	++ skimmed		〃
85	23.24	6.1	35.02	6.1 6.2	7	〃	〃	slight pink	〃	±	+		〃
90	24.47	6.1	41.08	6.2 6.2	9	stale	〃	〃	〃	±	skimmed		〃

As seen in the Tables, the qualities of canned product were good when raw mackerel was used of which the freshness was within the maximum storing time. That is to say, satisfactory results were obtained proving the validity of the proposed scale by actual testing and observing of samples which had been canned and processed as in commercial canneries.

By using this particular scale, when mackerel is handled and processed within the maximum storing time at known temperature of storing place or canning factory, good qualities of the canned mackerel will be obtained.

Summary

The freshness of the meat of mackerel (*Scomber japonicus HOUTTUYN*) was artificially varied by leaving raw mackerel as it was.

The degree of freshness of those samples was detected by the estimation of the amount of volatile base nitrogen, value of pH and by organoleptic test.

Mackerel meat of various degrees of freshness was packed in cans and processed. After a certain period the cans were opened, and the quality of canned meat was determined by the estimation of the amount of volatile base nitrogen and by organoleptic test. According to the those experiments, it is shown that raw mackerel meat of which the amount of voltile base nitrogen is estimated as 20 mg% is no more fit material for canned mackerel.

The relation between the storing temperature and the corresponding maximum limit time of storing of mackerel meat was shown as a particular scale.

By using this scale, when the storing temperature is 20°C, the maximum limit time of storing of mackerel meat will be 15 hours.

The data on the scale were found to agree almost exactly with the practical values from experiment.

Literature cited

1) Tanikawa, E. & Yagi, T. (1954). *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **5** (2), 209-221.(Japanese).
2) Tanikawa, E. *et al.* (1953). *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **4** (1), 1~39; **4** (2), 123~131.
3) Tanikawa, E. (1938). *Bull. Soc. Sci. Hyg. Aliment. Paris* **26**, 149.

FUNDAMENTAL STUDIES ON SPHERICAL GLASS FLOATS FOR FISHING NETS (3)

On the Point at which Floats are broken by External Water Pressure

Kiichiro KOBAYASHI, Hiroya TAKAHASHI and Motokazu UENO
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

According to Saito's report[1] concerning experiments with the trawl net around the bay of Otaru, 4 pieces of 4 SUN nominal size glass floats among 50 pieces fixed to the trawl net, which corresponded to 8 %, were broken by water pressure between the surface of the sea and 820 m depth.

Assuming a glass float as an ideal true ball, external breaking pressure is simply calculated by the next equation:[2]

$$p = 2ts/r \qquad (1)$$

where p: breaking water pressure in kg/cm^2
t: thickness of a glass float in cm
s: breaking compressive stress in kg/cm^2
r: radius of a glass float in cm

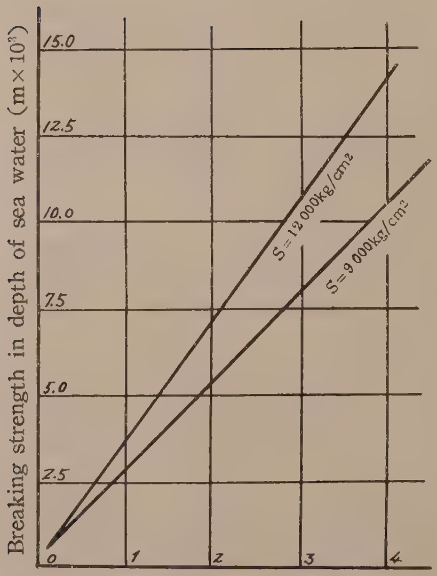


Fig.1. The relation between (p) and (t), which is calculated by equation (1)

As the actual value of breaking compressive stress of glass material lies within a range between 9000 and 12000 kg/cm^2, (p) calculated by equation (1) lies also within some range, as shown in Fig. 1. Where (r) is put in the equation as 6 cm and (t) as 1, 2 and 3 mm etc. For instance, a glass float of 1 mm thickness has a range between 300 and 400 kg/cm^2 breaking strength, which corresponds to approximately 3000 and 4000 m depth of sea water, and a float of 2 mm thickness has a range between 600 and 800 kg/cm^2, which corresponds to 6000 and 8000 m respectively.

The fact that a few glass floats fixed on the trawl net have been actually broken at such lower pressure than the calculated, suggests that some serious causes influenced these incorrectnesses. In order to make these causes plain, the

authors tried to test the actual breaking pressure of as many 4 SUN nominal size glass floats in a pressure testing vessel, as shown in Fig. 2, and observed the breaking conditions of them. In the first case, measurement was made of the breaking pressures of 12 floats respectively, which were sampled at random from among 100 pieces. The results are shown in Table 1, and it was found that the breaking strength by water pressure of these glass floats was spread within a considerably wide range. It appeared that the weak points of them lay in the plugs or the areas around the plugs, as shown in the right-hand Fig. 3.

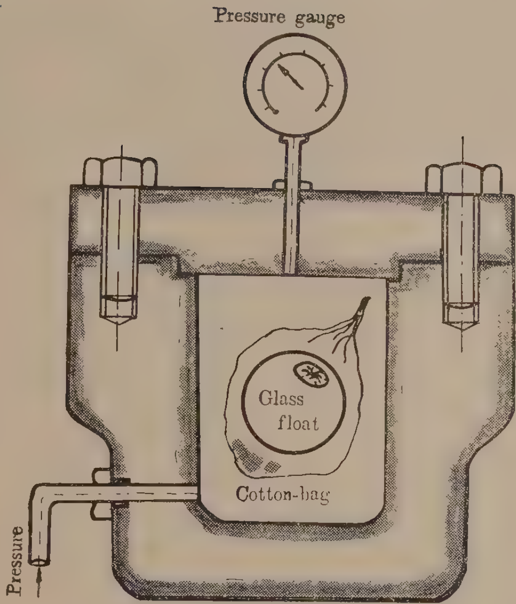


Fig. 2. Sketch of the pressure testing vessel

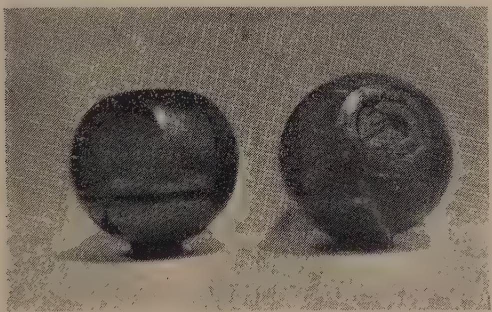


Fig. 3. An example of the breaking conditions around the plugs (right) and of the glass floats having flat or concaved surfaces around the plugs (left)

Table 1. The results of the breaking pressure test of 12 floats sampled at random among 100 floats

No. of articles	Breaking pressure in kg/cm^2	Breaking conditions
1	460	Unbroken
2	180	Shattered to pieces
3	390	Shattered to pieces
4	430	Unbroken
5	210	Shattered to pieces
6	150	The plug sank down
7	40	Cracked around the plug
8	440	Broken at the blowhole
9	220	The plug sank down
10	75	Cracked around the plug
11	700	Unbroken
12	300	Cracked around the plug

Where a plug is used to fill up the hole of a glass float which is made when a blast tube[3] is pulled out. In the case of filling up the hole by the plug, slight push makes a flat or concave surface close around the hole. Then tests were made of the breaking pressures of 11 glass floats which were selected out of 100 and had considerable flats or concaved surfaces around the plugs, as shown in the left hand Fig. 3. The results are shown in Table 2. These glass floats

Table 2. The results of the breaking pressure test of 11 floats selected out of 100 floats

No. of articles	Breaking pressure in kg/cm²	Breaking conditions
1	30	The plug sank down
2	110	Cracked around the plug
3	110	The plug sank down
4	15	〃
5	45	〃
6	170	〃
7	150	Shattered to pieces
8	70	Cracked around the plug
9	30	Broken at the concaved point near the plug
10	60	Cracked around the plug
11	125	Broken at the concaved point near the plug

were broken at lower pressure in comparison with the other approximately spherical glass floats.

As the trawl net is commonly towed at depths within 200 m in sea water, a glass float having more than 20 kg/cm² breaking strength would seem reasonably certain not to be broken. But the trawl net is operated repeatedly and sometimes towed at more than 200 m depth, so the authors define that it is sufficient for a glass float to have more than 100 kg/cm² breaking strength in expectation of safety factor. In other words, floats having less than 100 kg/cm² breaking strength are unsatisfactory.

The authors tried to ascertain the percentages of bad ones in the 4 SUN float stock manufactured at a certain glass works in Hakodate. Eighteen bad ones were found among 140 floats sampled, and the number in the stock was estimated at about 300 pieces. They were alltested in the pressure testing vessel, and the results were shown in Table 3, where 11 pieces among them had less than 100 kg/cm² breaking strength of pressure. Accordingly it is concluded that the estimate of the percentages of the bad glass floats among the stock is between 3.9 % and 14.7 %, with confidence limit 98 %.[4]

Table 3. The results of the breaking pressure test of 18 bad floats selected out of 140 floats

No. of articles	Breaking pressure in kg/cm²	Diameter of the flat surface in cm	Breaking conditions
1	35	47	Sank down
2	50	56	Cracked
3	65	53	〃
4	60	50	〃
5	260	Blowhole	〃
6	200	Crooked float	〃
7	150	44	〃
8	100	56	〃
9	30	52	〃
10	125	50	〃
11	150	51	〃
12	30	54	〃
13	120	50	〃
14	100	Concaved	Sank down
15	150	49	Cracked
16	90	54	〃
17	50	51	〃
18	75	54	〃

Literature cited

1) Saito, I. & Mishima, S. (1950). [On the fish ground, fishing gear of the trawl net and its fishery] *Hokubu Nihonkai Shinkai Gyoden Chosa Hokoku* **2**, 56–57. (in Japanese).

2) Yoshi, k. (1950). [*Advanced machine design*]. 135 p. Tokyo; Kyoritsusha.

3) Kobayashi, K. Takahashi, H. & Ueno, M. (1950). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **1** (2), 102–110. (in Japanese with English abstract).

4) Snedecor, G. W. (1946). *Statistical methods*. 485 p. Amer. Iowa State, U.S.A.; The Iowa State College Press.

海藻に関する化学的研究

第9報　各種海藻中の塩基性アミノ酸含量に就て

高　木　光　造
（北海道大学水産学部水産食品化学教室）

Chemical Studies on Marine Algae

IX. Histidine, arginine and lysine contents in various species of marine algae

Mitsuzo TAKAGI

Abstract

Histidine, arginine, and lysine contents in various species of marine algae were determined by Richard J. Block's method. The results obtained are summarized as in Table 1.

1. The proportion of histidine content to crude protein is estimated as from 1.06 to 1.92 % in green algae, 1.45 to 7.42 % in brown algae, and 0.91 to 6.15 % in red algae. That is to say, the proportion of histidine content to crude protein in brown and red algae is nearly equal to that in other plants or animals, while it is relatively low in green algae.

2. The proportion of arginine content to crude protein is estimated as from 3.41 to 8.11 % in green algae, 4.42 to 20.08 % in brown algae, and 3.05 to 9.05 % in red algae. Among these marine algae, the difference of arginine content can not be recognized, with the exception of certain species of brown algae, *viz.*, *Laminaria japonica*, *Hijikia fusiformis* and *Sargassum confusum*, of which the arginine content is remarkably rich comparing with that of other plants or animals. These algae are exceptionally characteristic among general marine algae.

3. There is no lysine in green algae (*Ulva pertusa*, *Enteromorpha intestinalis* and *Chaetomorpha moniligera*), brown algae (*Leathesia difformis*, *Chorda Filum*, *Undaria pinnatifida* f. *distans*, *Undaria pinnatifida* f. *narutensis* and *Hijikia fusiformis*) and red algae (*Neodilsea Yendoana*, *Grateloupia filicina*, *G. livida*, *Erythrophyllum Gmelini* and *Delesseria violacea*), but some of the brown and red algae contain a small amount of lysine. Accordingly, lysine may be stated not to be contained or contained in very low amount, if it exists at all, in the protein of marine algae, as if the amino acid in the protein is inferior in the terrestrial plants to the content in the animals.

1. 緒　　言

リジン，トリプトファン及びヒスチヂンは体内で合成されない栄養上必須アミノ酸として，古くより Willcock & Hopkins,[1] Abderhalden & Rona,[2] Ackroyd & Hopkins[3] 等により知られているが，近年 Rose 一門の研究により更にフェニールアラニン,[4] スレオニン,[5] ロイシン,[6] イソロイシン,[6] メチオニン,[7] バリン[8] が追加され，又アルギニン[9] は体内で合成されるけれどもその合成量が体重増加のための要求量に及ばないことが認められてこれを必須アミノ酸に加える見解も生じた。従つて塩基性アミノ酸量を以て蛋白質の栄養価値判定の一基準として便宜的に表わす方法が一般的に行われている。

海藻蛋白中のこれら塩基性アミノ酸含量については古く A. Mazur & H. T. Clarke[10] が *Ulva lactuca*, *Laminaria*, *Sargassum* 及び *Chondrus crispus* について興味ある結果を報告している。即ち緑藻 *Ulva* 及び褐藻の中進化の系列において下等な *Laminaria* はアルギニン，ヒスチヂンを含むがリジンを全く含まず褐藻の中でも高等な *Sargassum* 及び紅藻 *Chondrus* はいずれもアルギニン，ヒスチヂン及びリジンを含有すると述べている。著者は海藻蛋白の栄養価値を正確に決定するためにアミノ酸の種類と量とを明らかにする仕事の一環として前報[1]においてチロシン，トリプトファン，スレオニン及びセリン含量について紹介したが，同時に海藻中のアミノ酸含量が明らかになればそれによつて海藻蛋白の特性の一端を知ることも容易であり，又海藻相互間における系統発達の順位を決定することも可能であろうと考えた。よつて引続き本報において Richard J. Block[12] 法により海藻中のヒスチヂン，アルギニン及びリジン含量について定量したのでその結果について報告する。

2. 実験試料並びに実験方法

〔1〕 実験試料

函館近郊の沿岸で採取したきわめて新鮮な試料を再三水洗した後風乾したもの及び市販品を更に 100°C の乾燥器中で30分加温乾燥し粉末として実験に供した。

〔2〕 測定方法

50cc容三角フラスコに試料約2.5gをとり，これに 8N H_2SO_4 25cc を加え，逆流冷却器をつけて24時間加水分解する。分解終了後不溶物を濾過し，残渣を熱水で洗滌した後濾液及び洗液を合して，これに加温した飽和 $Ba(OH)_2$ 溶液を加え，コンゴー赤試験紙で pH 6 に中和し，生じた沈澱を遠心分離して上澄液を 500cc 容クライゼンフラスコ中に濾過する。$BaSO_4$ の沈澱は熱水で 2 ～ 3 回洗滌する。濾液に少量のカプリルアルコールを加え減圧下で25ccに濃縮し実験に供した。

A ヒスチヂン

供試液25ccを100ccの遠心沈澱管に移し上澄液が $Ba(OH)_2$ により褐色塊状の沈澱を析出する迄飽和 $AgNO_3$ 溶液を加え次に冷飽和 $Ba(OH)_2$ 溶液を少量ずつ加えて pH 7.0～7.4 とする（50cc を越えないようにする）。pH 7.4 に近づくとヒスチヂン銀塩の沈澱が急激に生ずる。Bromthymol blue で青色，Phenolphthalein で無色なることをよく確める。Phenolphthalein で微に紅色を呈する時は稀 H_2SO_4 溶液で pH 4 ～ 5 とし，再び $Ba(OH)_2$ 溶液を加えて pH を調節する。次いで沈澱を遠心分離し水で洗滌する。上澄液及び洗液は直ちに 1：3 H_2SO_4 溶液を加えて pH 5 とし，減圧で濃縮して 25cc としアルギニン及びリジンの定量に供する。

ヒスチヂン銀塩の沈澱を水に懸濁し，1：3 H_2SO_4 溶液で pH 5 に調節し，H_2S を通ずると銀塩は分解して AgS の沈澱を生ずる。これを遠心分離し，沈澱を 1：3 H_2SO_4 溶液数滴を含む水で 3 回洗滌する。濾液及び洗液を合し減圧下で 5 cc に濃縮する。これを 50cc の遠心沈澱管に移し水で 10cc に稀釈する。これに 5 % H_2SO_4 溶液中に飽和させた $HgSO_4$ 溶液 30ccを加えてヒスチヂンを水銀塩として沈澱させ，氷室中に 3～5時間放置後遠心分離し，飽和 $HgSO_4$ 溶液で洗滌する。こゝにえられた沈澱を水に懸濁し，H_2S で分解，HgS の沈澱を遠心分離し，1：3 H_2SO_4 溶液数滴を含む水で洗滌し，濾液と洗液を合して減圧下で 10ccに濃縮する。これを 100cc の三角フラスコに移し，$Ba(OH)_2$ 溶液で大体中和し，$BaCO_3$ 溶液を加え，冷却器を附して沸騰する迄加温する。これに直ちに $CuCO_3$ の稍々過剰を加え 15～30分加温する。上澄液は深青色を呈する。かくしてえられた銅塩を 30分 氷室中で冷却後遠心分離し，沈澱を洗滌する。上澄液及び洗液を合し 1：3 H_2SO_4 溶液を加え，H_2S で銅を除去し減圧下で濃縮して 50cc とする。これより一定量をとり Kjeldahl 法で窒素量を測定し，残液は減圧下で 2 cc に濃縮する。この温溶液にさきに定量したヒスチヂン区分窒素量 1 mg に対し 15mg の固体フラビアン酸を加え，氷室中に 2 ～ 3 日放置する。次いでヒスチヂン・フラビアネートを濾別し，アルコール及びアルコール・エーテル混液で洗滌し，100°C で乾燥秤量する。

$$\text{ヒスチヂン・ヂフラビアネート} \times 0.198 = \text{ヒスチヂン}$$

B アルギニン

さきに 25ccに濃縮したアルギニンとリジンを含む溶液を 100cc の遠心沈澱管に移し，銀イオンの存在量を

磁製匙に入れた冷飽和 $Ba(OH)_2$ 溶液中に一滴落して検し，もし強陽性でないときは更に AgNO 溶液を追加し，更に温飽和 $Ba(OH)_2$ 溶液を加えて pH 13〜14 とするとアルギニン銀塩が沈澱する。この沈澱を遠心分離し，冷 $Ba(OH)_2$ 溶液で洗滌する。上澄液はリジンの定量に供する。

アルギニン銀塩を水に懸濁し，稀 H_2SO_4 溶液を加えて pH 5とし，H_2S で分解し，生じた Ag_2S の沈澱を遠心分離し，沈澱を 1:3 H_2SO_4 溶液数滴を含む熱水で一回洗滌し濾液と洗液を減圧下で 20cc に濃縮する。この溶液を 100cc の遠心沈澱管に移し，過剰の H_2SO_4 を $Ba(OH)_2$ 溶液で正確に沈澱させる。こゝに生じた $BaSO_4$ の沈澱を遠心分離し，1:3 H_2SO_4 溶液数滴を含む熱水で洗滌し，濾液と洗液を減圧下で濃縮して100cc とする。これより一定量をとり Kjeldahl 法でアルギニン区分の窒素量を測定する。残液は減圧下で 10ccに濃縮し，90〜100°C に加温し，アルギニン区分の窒素量 1 mg に対し 6 mg のフラビアン酸を少量の温湯に溶解した液を加え，氷室に 2〜3 時間放置後結晶を濾別し，アセトン，エーテルで洗滌し，110°C で乾燥秤量する。

アルギニン・フラビアネート × 0.3566 ＝ アルギニン

C　リジン

アルギニン銀塩を濾別した濾液及び洗液に 1:3 H_2SO_4 を加えて pH 1以下にする。これに H_2S を通じて $BaSO_4$ と Ag_2S を沈澱させ除去する。これを更に一度 H_2S で処理し，遠心分離する。濾液を合しこれを減圧下で 5〜10cc に濃縮し，1% Phenolphthalein 数滴を加え，これに 40% NaOH 溶液少量を加えてアルカリ性とし，95%アルコール50ccを加えたのち赤色が消失しないようにする。この溶液を減圧下で濃縮，アンモニヤを除去し，約 5 cc とする。これに 1:3 H_2SO_4 溶液を加えて酸性とし，100ccの遠心沈澱管に移し，約 30 cc に稀釈して濃 H_2SO_4 1.1cc を加える。もし沈澱が生じたら遠心分離し 1〜2 ccの水で洗滌する。次いで沈澱管を 90〜95°C に加温し，燐タングステン酸 10g を 5% H_2SO_4 溶液 30〜50ccに溶解して加える。これを更に氷水で冷却し，暫く攪拌するとリジン・燐タングステン酸塩の結晶が析出してくる。これを30〜40分氷室中に保ち遠心分離し，燐タングステン酸を 5% H_2SO_4 に溶かした溶液の少量で 2 回洗滌する。リジン・燐タングステン酸塩を分液濾斗中で稀 H_2SO_4 溶液を含んだ水に懸濁し，アミルアルコール・エーテル混液で常法の如く分解する。かくしてえられた水層を更に 3 回抽出し，溶媒は一滴の H_2SO を含む水で抽出し，全水層を再びアルコール・エーテル混液で洗滌する。リジン硫酸塩溶液は250ccのビーカーに移し，結晶 $Ba(OH)_2$ 5 g を 20cc の温湯に溶解した液を加え，pH 5に調節する。これを湯煎上で数分間加温し，更に 2 g の $BaCO_3$ を加えてよく攪拌する。こゝに生じた $BaSO_4$, $BaCO_3$ の沈澱を遠心分離し，熱水で数回洗滌し，濾液及び洗液を 1 l のフラスコに移し，$BaCO_3$ 1 g 及びカプリルアルコール 3 cc を加え減圧下で 50cc に濃縮し，沈澱は遠心分離し 1〜2 回熱水で洗滌して全容を 100cc とする。これより一定量をとり Kjeldahl 法で窒素量を測定する。残液を減圧で 1〜2 cc に濃縮し，5〜10ccの無水アルコールで毛細管及び器壁を洗滌する。もし沈澱が生成したら 1〜2 滴の水を加えて沈澱を再溶解する。これを室温に冷却し，リジン区分窒素 1 mg に対し 8.1mg の純ピクリン酸のアルコール溶液を加え，冷蔵庫に 2〜3 時間放置後結晶をガラスフィルターで濾別し，冷無水アルコール・エーテル混液（1:1）で洗滌し，110°C で乾燥秤量する。

リジン・ピクレート × 0.39 ＝ リジン

著者は別に個々の試料について窒素を測定し，その値に係数を乗じて粗蛋白量を算出し，粗蛋白に対するヒスチヂン，アルギニン及びリジン含量を求めて比較し，海藻蛋白の特性の一端を伺うことにした。

3. 実験結果並びに考察

〔1〕 各種海藻中のヒスチヂン，アルギニン及びリジン含量に就て

以上の測定法に従つて各種海藻中のヒスチヂン，アルギニン及びリジンの定量を行つてえた結果は Table 1 に示す如くで，Fig. 1 はこれを図示したものである。もとより同一の種類についても採取時期或いは採取場所の相違によりその含量は著しく異なるから，著者は採取条件を明示した。従つてこゝにえた実験結果はこの条件に制扼された一つの分析値を表わすに過ぎないが，これを以て一応海藻蛋白の特性を論究して見たい。

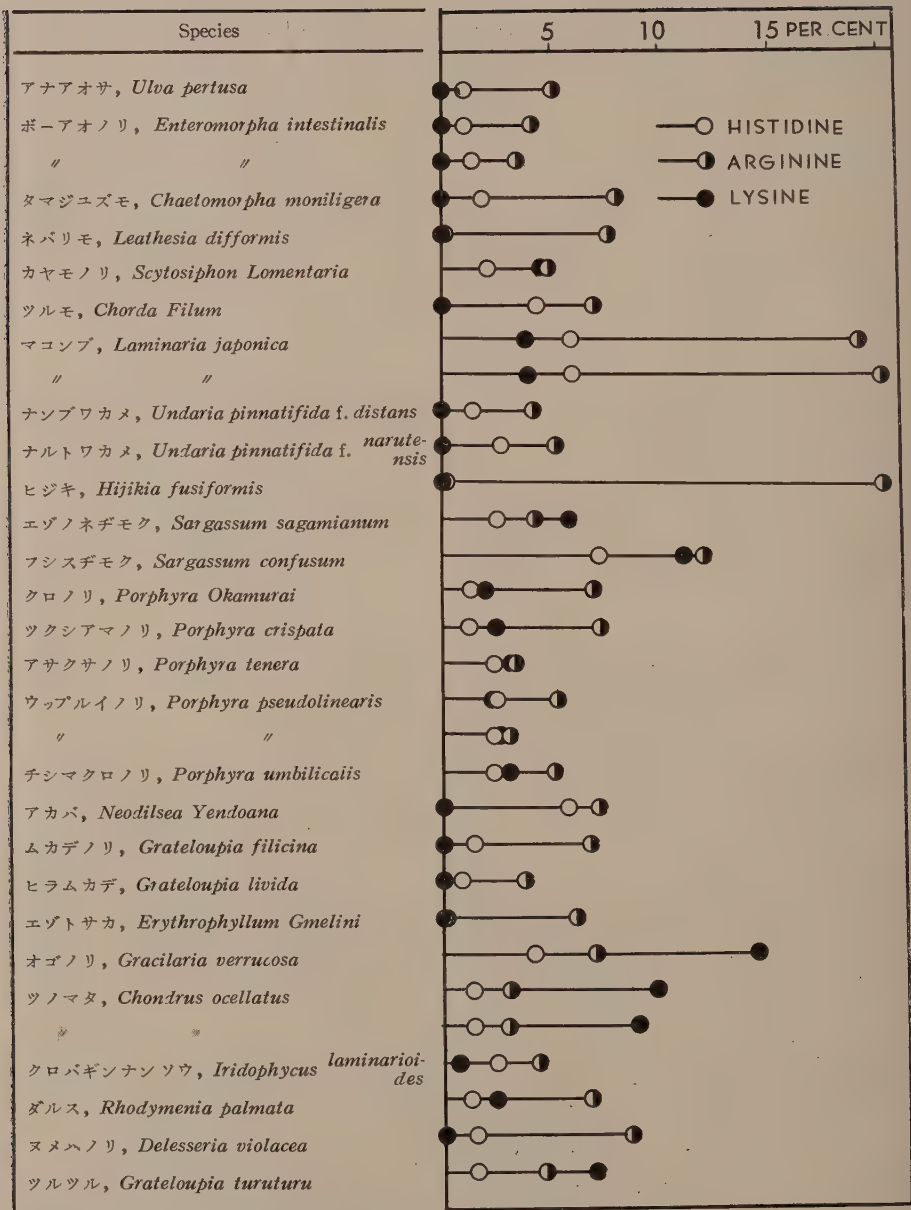


Fig. 1. Graph showing the proportion of histidine, arginine, and lysine contents to crude protein in various species of marine algae

Table 1. Histidine, arginine and lysine contents in various species of marine algae

	No.	Species	Place of sampling	Date of sampling	Histidine in dry matter %	Arginine in dry matter %	Lysine in dry matter %	Crude protein %	Histidine in crude protein %	Arginine in crude protein %	Lysine in crude protein %
Green algae	1	アナアオサ, *Ulva pertusa*	Nanaehama	May 8	0.356	1.757	0	33.16	1.073	5.298	0
	2	ボーアオノリ, *Enteromorpha intestinalis*	Mie	Mar. 1	0.338	1.245	0	31.69	1.066	3.928	0
	3	〃 〃	Moheji	June 14	0.493	1.002	0	29.34	1.680	3.415	0
	4	タマジュズモ, *Chaetomorpha moniligera*	Nanaehama	June 25	0.354	1.493	0	18.36	1.928	8.118	0
Brown algae	5	ネバリモ, *Leathesia difformis*	Moheji	June 14	trace	0.413	0	5.52	trace	7.481	0
	6	カヤモノリ, *Scytosiphon Lomentaria*	Nanaehama	May 2	0.427	0.939	0.912	18.64	2.285	5.037	4.892
	7	ツルモ, *Chorda Filum*	Moheji	June 14	0.475	0.741	0	10.35	4.589	7.159	0
	8	マコンブ, *Laminaria japonica*	Nanaehama	June 4	0.991	3.104	0.639	16.27	6.090	19.078	3.927
	9	〃 〃	〃	June 5	0.911	2.927	0.595	14.57	6.252	20.089	4.083
	10	ナンブワカメ, *Undaria pinnatifida* f. *distans*	〃	Apr. 28	0.333	1.010	0	22.84	1.457	4.422	0
	11	ナルトワカメ, *Undaria pinnatifida* f. *narutensis*	——	——	0.294	0.532	0	9.93	2.960	5.357	0
	12	ヒジキ, *Hijikia fusiformis*	Moheji	June 14	trace	0.864	0	4.32	trace	20.000	0
	13	エゾノネジモク, *Sargassum sagamianum*	Nanaehama	June 14	0.639	1.044	1.394	23.49	2.720	4.444	5.934
	14	フシスヂモク, *Sargassum confusum*	Moheji	June 14	0.512	0.831	0.782	6.90	7.420	12.043	11.333
Red algae	15	クロノリ, *Porphyra Okamurai*	Ishikawa	Feb. 10	0.389	2.343	0.645	33.43	1.163	7.008	1.929
	16	ツクシアマノリ, *Porphyra crispata*	Kumamoto	Feb. 20	0.391	2.552	0.892	34.11	1.146	7.481	2.615
	17	アサクサノリ, *Porphyra tenera*	Ise	——	0.875	1.158	1.124	35.21	2.485	3.288	3.192
	18	ウップルイノリ, *Porphyra pseudolinearis*	Oshoro	——	0.748	1.577	0.744	27.94	2.677	5.644	2.662
	19	〃 〃	Nanaehama	Jan. 25	0.933	1.216	1.029	39.66	2.352	3.066	2.594
	20	チシマクロノリ, *Porphyra umbilicalis*	Abashiri	——	0.853	1.875	1.068	34.22	2.492	5.479	3.120
	21	アカバ, *Neodilsea Yendoana*	Moheji	June 14	0.586	0.728	0	9.52	6.155	7.647	0
	22	ムカデノリ, *Grateloupia filicina*	Nanaehama	Feb. 1	0.411	1.872	0	26.75	1.536	6.998	0
	23	ヒラムカデ, *Grateloupia livida*	〃	Feb. 1	0.286	1.236	0	31.25	0.915	3.955	0
	24	エゾトサカ, *Erythrophyllum Gmelini*	〃	Feb. 1	trace	1.712	0	25.87	trace	6.617	0
	25	オゴノリ, *Gracilaria confervoides*	Moheji	June 14	0.545	0.853	1.720	11.96	4.556	7.132	14.381
	26	ツノマタ, *Chondrus ocellatus*	Nanaehama	Feb. 1	0.359	0.814	2.482	25.08	1.431	3.245	9.896
	27	〃 〃	〃	June 23	0.368	0.874	2.629	28.61	1.286	3.054	9.189
	28	クロバギンナンソウ, *Iridophycus laminarioides*	〃	Apr. 24	0.473	0.913	0.176	18.81	2.514	4.853	0.935
	29	ダルス, *Rhodymenia palmata*	〃	Apr. 24	0.238	1.532	0.523	21.38	1.113	7.165	2.446
	30	ヌメハノリ, *Delesseria violacea*	〃	May 2	0.354	2.289	0	25.27	1.400	9.058	0
	31	ツルツル, *Grateloupia turuturu*	〃	Apr. 28	0.401	1.220	1.831	24.65	1.626	4.949	7.427

以上より乾物中のヒスチヂン，アルギニン及びリジン含量は夫々 0.238～0.991%，0.413～3.104% 及び 0.176～2.629% にあつたが，褐藻ネバリモ，ヒジキ及び紅藻エゾトサカにおいてヒスチヂンは痕跡に過ぎず，又緑藻アナアオサ，ボーアオノリ，タマジュズモ，褐藻ネバリモ，ツルモ，ナンブワカメ，ナルトワカメ，ヒジキ及び紅藻アカバ，ムカデノリ，ヒラムカデ，エゾトサカ，ヌメハノリにおいてリジンは全く認められなかつた。かくの如く種類によりヒスチヂン，アルギニン及びリジン含量には著しい差異が認められたが，海藻の種類により窒素含量も亦著しく異なるから，粗蛋白に対するヒスチヂン，アルギニン及びリジン含量を比較した方が海藻の栄養価値並びに蛋白の特性を明らかにするために妥当と考えられる。即ち粗蛋白に対するヒスチヂン，アルギニン及びリジン含量について見るとヒスチヂンは緑藻においては1.06～1.92%，褐藻においては1.45～7.42%，紅藻においては0.91～6.15%にあつて褐藻，紅藻蛋白中のヒスチヂン含量は他の動植物蛋白中のそれにほゞ匹敵する。而して緑藻におけるヒスチヂン含量は褐藻及び紅藻に比し稍々劣ることが解る。

一方アルギニンは緑藻においては 3.41～8.11%，褐藻においては4.42～20.08%，紅藻においては3.05～9.05%にあつて，緑藻，褐藻，紅藻を通じてアルギニン含量には特別の差異は認められず，海藻蛋白中のアルギニン含量は平均して5～8%にあるといえよう。これを他の動植物蛋白に比較すると牛乳，小麦，玉蜀黍蛋白中のアルギニン含量を遙かに凌ぎ，牛肉，大豆，豌豆蛋白中のそれに比し少しも遜色がない。のみならず褐藻類中マコンブ，ヒジキ，フシスヂモクにおいて粗蛋白に対するアルギニン含量が著しく多かつたが，A. Mazur & H. T. Clarke も亦 *Laminaria* について同様の事実を認めているので，これは海藻蛋白の特性の一つと思われる。

又リジンは緑藻アナアオサ，ボーアオノリ，タマジュズモ，褐藻ネバリモ，ツルモ，ナンブワカメ，ナルトワカメ，ヒジキ，紅藻アカバ，ムカデノリ，ヒラムカデ，エゾトサカ，ヌメハノリにおいて全く含まなかつた。これは A. Mazur & H. T. Clarke が *Ulva, Laminaria, Sargassum* 及び *Chondrus* について行つた実験結果とほゞ一致し，緑藻蛋白中にはリジンを全く含まない事実を暗示するが，*Laminaria*においてはリジンの存在を確認した。而してリジン含量において一般に植物蛋白が動物蛋白に遙かに及ばない事実が認められているが，海藻蛋白においても皆無であるかもしくは比較的少く，これも亦海藻蛋白の特性の一つと思われる。

4. 要　　約

Richard J. Block 法によつて各種海藻中のヒスチヂン，アルギニン及びリジン含量を測定し，次の結果をえた。

1. ヒスチヂン含量は緑藻においては1.06～1.92%，褐藻においては1.45～7.42%，紅藻においては0.91～6.15%にあり，褐藻，紅藻蛋白中のヒスチヂン含量は他の動植物蛋白中のそれにほゞ匹敵する。而して緑藻におけるヒスチヂン含量は褐藻及び紅藻に比し稍々劣る。

2. アルギニン含量は緑藻においては 3.41～8.11%，褐藻においては4.42～20.08%，紅藻においては3.05～9.05%にあつて，藻類相互間における差異は認められない。しかし褐藻類中マコンブ，ヒジキ，フシスヂモクにおいてアルギニン含量が著しく多く，これは海藻蛋白の特性の一つと思われる。

3. リジン含量は緑藻アナアオサ，ボーアオノリ，タマジュズモ，褐藻ネバリモ，ツルモ，ナンブワカメ，ナルトワカメ，ヒジキ，紅藻アカバ，ムカデノリ，ヒラムカデ，エゾトサカ，ヌメハノリにおいては皆無であつたが，或る種褐藻及び紅藻においては含有する。而して海藻蛋白中のリジン含量は植物蛋白が動物蛋白に劣る如く皆無であるか，もしくは比較的少い。

本研究を遂行するに当り終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜つた本学部教授村田喜一先生に深甚なる謝意を表する。又実験遂行に当り終始労を惜しまず協力された竹村恒男，林千明両君に対し心から感謝するものである。

文　　献

1) Willcock & Hopkins (1906-7). *J. Physiol.* **35**, 88.
2) Abderhalden & Rona (1904). *Z. Physiol. Chem.* **42**, 528.
3) Ackroyd, H. & Hopkins, F. G. (1916). *Biochem. J.* **10**, 551.
4) Womack, M. & Rose, W. C. (1934). *J. Biol. Chem.* **107**, 449.
5) McCoy, R. H., Meyer, C. E. & Rose, W. C. (1935-36). *J. Biol. Chem.* **112**, 283.
6) Womack, M. & Rose, W. C. (1936). *J. Biol. Chem.* **116**, 381.
7) Womack, M., Kemmerer. K. S. & Rose, W. C. (1937). *J. Biol. Chem.* **121**, 403.
8) Rose, W. C. & Eppstein, S. H. (1939). *J. Biol. Chem.* **127**, 677.
9) Rose, W. C. *et al* (1946). *J. Biol. Chem.* **166**, 585.
10) Mazur, A. & Clarke, H. T. (1938). *J. Biol. Chem.* **123**, 729.
11) 高木光造 (1953). 北大水産彙報 **4**, 86; **4**, 92.
12) Block, R. J. (1934). *J. Biol. Chem.* **106**, 457.

海藻の窒素同化機構に関する研究—IV
硝酸還元酵素の最適温度に就て*

高木光造・村田喜一
（北海道大学水産学部水産食品化学教室）

Studies on the Mechanism of Nitrogen Assimilation in Marine Algae-IV
On the optimum temperature of the nitrate reductase in some species of marine algae

Mitsuzo TAKAGI and Kiichi MURATA

Abstract

The optimum temperature for the development of nitrate reductase in seven species of marine algae including two green, two brown and three red algae was determined.

1. The optimum temperature of the nitrate reductase in green algae was 12.5-15°C in *Ulva pertusa* and 15°C in *Enteromorpha Linza*.

2. In brown algae, 15-17.5°C in both *Scytosiphon Lomentaria* and *Undaria pinnatifida* f. *distans*.

3. In red algae, 10°C in *Porphyra pseudolinearis*, 10-12.5°C in *Gelidium Amansii* and 12.5-15°C in *Chondrus armatus*.

These results show that the optimum temperature for the occurrence of the nitrate reductase agrees very well with the environmental temperature of the seasons when these algae grow.

海水の温度は赤道に位する海域を除いては四季を通じて変化するものであるが，特に沿岸水域においてはその変化が著しく，従つて其処に生育する海藻の種も亦四季を通じて変化に富む。その中コンブの如く生育期間の比較的長いものもあり，又エゾヒトエグサの如く比較的短かいものもあるが畢竟するに海藻は環境海水の温度に対し，きわめて鋭敏であるとは間違なき事実である。

著者の一人(高木)[1]はさきに海藻カタラーゼの Opt. Temp. を測定し，その生育する時期の環境海水の温度にきわめてよく一致することを確めたのであるが，こゝでは硝酸還元酵素の Opt. Temp. を測定した結果よりこれら海藻がその生育する環境海水の温度と如何なる関連性をもつかについて検討した結果を報告する。

実験方法

(1) 硝酸還元酵素液の調製

前報[2]に記載した方法による。

(2) 硝酸還元酵素の Opt. Temp. 測定法

*昭和29年4月日本水産学会年会（東京）に於て講演

Thunberg Tube	Composition of Exp. Solution	
Side Chamber	-0.011M KNO_3 Solution	1 cc
	-0.52M Sodium Lactate Solution	1
Main Chamber	-M/15 Sørensen's Phosphate Buffer Solution	5
	-Enzyme Solution	2
	-Water	1
	Total	10cc

上述の内容液を0～40°Cの種々の温度に保ち，10mm以下の真空度で1時間反応させたのち，20% Trichloracetic acid 0.5cc，活性白土（既報1～IIIにおいて酸性白土とあるは活性白土の誤りにつき訂正する）1gを加え，遠心分離してえられる上澄液を分取し，Griess—Ilosvay 試薬2ccを加え40°C，15分間加温して生ずる桃色の色調を光電比色計により透過率を測定し，それより生成された亜硝酸イオンの最多量を示す温度を以て最適とした。

実　験　結　果

(1)　緑藻の硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. に就て

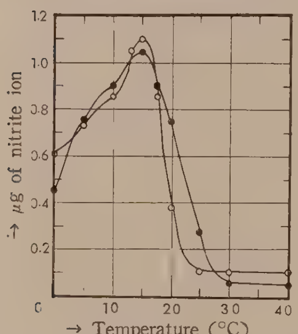


Fig. 1. Optimum temperature of the nitrate reductase in *Ulva pertusa* (○-○) and *Enteromorpha Linza* (●-●)

試料は次の2種である。

A.　アナアオサ（*Ulva pertusa*）…5月17日，七重浜にて採取，水温12.0°C

B.　ウスバアオノリ（*Enteromorpha Linza*）… 5月22日，同上にて採取，水温12.0°C

アナアオサ，ウスバアオノリについて反応時間を1時間として硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. 曲線を求めた結果を Fig. 1 に示した。

Fig. 1 に示される如く緑藻の硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. はアナアオサにおいては 12.5～15°C，ウスバアオノリは 15°Cにあることを知つた。然しながら著者の一人（高木）[1] は海藻カタラーゼの Opt. Temp. を測定した際 Opt. Temp. は反応時間により相違することを見出したので，こゝにえられた実験結果も反応時間を1時間と限定したときえられた見掛け上の Opt. Temp. にすぎない。著者はかゝる反応条件に制扼されてえられた見掛け上のOpt. Temp.を以て一応硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. とした。

(2)　褐藻の硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. に就て

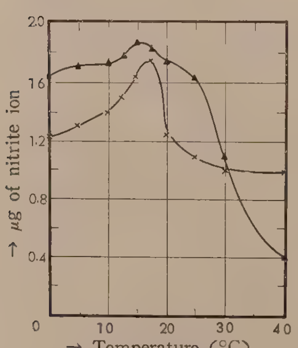


Fig. 2. Optimum temperature of the nitrate reductase in *Undaria pinnatifida* f. *distans* (▲-▲) and *Scytosiphon Lomentaria* (×-×)

試料は次の2種である。

C.　カヤモノリ（*Scytosiphon Lomentaria*）… 5月21日，七重浜にて採取，水温12.0°C

D.　ナンブワカメ（*Undaria pinnatifida* f. *distans*）… 7月27日，同上にて採取，水温22.0°C

カヤモノリ，ナンブワカメについて同じく反応時間を1時間と限定して硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. 曲線を求めた結果を Fig. 2 に示した。

Fig. 2 に示される如く褐藻の硝酸還元酵素作用力のOpt. Temp.はカヤモノリ，ナンブワカメいずれも15～17.5°C にあることを知つた。

(3)　紅藻の硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. に就て

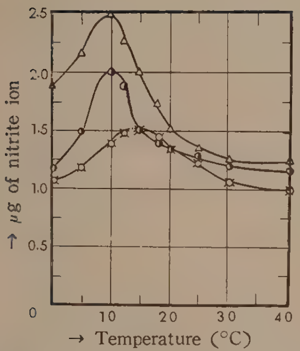


Fig. 3. Optimum temperature of the nitrate reductase in *Porphyra pseudolinearis* (△-△), *Gelidium Amansii* (◑-◑) and *Chondrus armatus* (⌧-⌧)

試料は次の3種である。

E. ウップルイノリ (*Porphyra pseudolinearis*)… 2月20日，七重浜にて採取，水温6.0°C

F. テングサ (*Gelidium Amansii*)… 5月8日，住吉町海岸にて採取，水温11.0°C

G. トゲツノマタ (*Chondrus armatus*)… 5月20日，七重浜にて採取，水温12.0°C

ウップルイノリ，テングサ，トゲツノマタについて同じく反応時間を1時間と限定して硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. 曲線を求めた結果をFig. 3に示した。

Fig. 3に示される如く紅藻の硝酸還元酵素作用力のOpt. Temp.はウップルイノリにおいては10°C，テングサは10～12.5°C，トゲツノマタは12.5～15°Cにあることを知つた。

考　　察

海藻の硝酸還元酵素作用力のOpt. Temp.はウップルイノリにおいては10°C，テングサは10～12.5°C，アナアオサ，トゲツノマタは12.5～15°C，ウスバアオノリは15°C，カヤモノリ，ナンブワカメは 15～17.5°C を示し，これらはその生育する時期の環境海水の温度にきわめてよく一致する。

而して著者の一人(高木)[1]はさきに海藻カタラーゼ作用力のOpt. Temp.を測定してウップルイノリは5～12.5°C，テングサは10～15°C，アナアオサは10～12.5°C，ウスバアオノリは17.5°C，カヤモノリ，ナンブワカメは12.5～17.5°Cと報告したが，これ等海藻の硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. も亦ほゞ同一値を示したことはこれ等の温度を示す時期の環境海水が各々の藻類の生長発育に最適であることを暗示している。

然しながら生体内には無数の酵素類があつてそれら酵素類の相互且密接なる連繫の下に生活現象が営まれていることを考えるとこれらの温度が更に藻体内に含まれる諸酵素作用力の Opt. Temp. になり得るか否かを追究する必要があろう。かくして始めて酵素的適温が生物的適温を示すに到るものと思考せられる。

要　　約

硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. を緑藻2種，褐藻2種，紅藻3種，計7種について測定した。その結果

1. 緑藻における硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. はアナアオサは12.5～15°C，ウスバアオノリは15°Cにあることを知つた。

2. 褐藻における硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. はカヤモノリ，ナンブワカメいずれも15～17.5°Cにあることを知つた。

3. 紅藻における硝酸還元酵素作用力の Opt. Temp. はウップルイノリは10°C，テングサは10～12.5°C，トゲツノマタは12.5～15°Cにあることを知つた。

文　　献

1) 高木光造 (1953). 日水誌 **19**, 803.

2) 高木光造・村田喜一 (1954). 北大水産彙報 **4**, 296.

海藻の窒素同化機構に関する研究 — V

硝酸還元酵素の水素供与体に就て*

高木光造・村田喜一
（北海道大学水産学部水産食品化学教室）

Studies on the Mechanism of Nitrogen Assimilation in Marine Algae -V

On the hydrogen donator of nitrate reductase

Mitsuzo TAKAGI and Kiichi MURATA

Abstract

To ascertain whether organic matter is used or not as hydrogen donator of nitrate reductase in nitrate assimilation of marine algae, 11 kinds of organic acids, 3 kinds of lower fatty acids, 19 kinds of amino acids, 6 kinds of sugar and one kind of sugar alcohol were employed on five species of marine algae. The results obtained are summarized in Table 1.

1. In *Enteromorpha Linza*, malonic acid, succinic acid, fumaric acid, glycolic acid, lactic acid, malic acid, glycine, alanine, valine, leucine, serine, glutamic acid, arginine, cystine, tryptophane, histidine, creatine, betaine and taurine played a rôle as the hydrogen donators. However, formic acid, acetic acid, *n*-butyric acid, proline and xylose were very slightly used as the hydrogen donators. Oxalic acid, maleic acid, tartaric acid, citric acid, pyruvic acid, phenylalanine, tyrosine, aspartic acid, lysine, methionine, arabinose, rhamnose, glucose, mannose, galactose and mannit did not perfectly act as hydrogen donators.

2. In *Ulva pertusa*, malonic acid, succinic acid, fumaric acid, glycolic acid, lactic acid, malic acid, glycine, alanine, valine, leucine, aspartic acid, glutamic acid, arginine, tryptophane, histidine, creatine, betaine and taurine acted as hydrogen donators, while citric acid, formic acid, acetic acid, *n*-butyric acid, phenylalanine, tyrosine, serine, proline, arabinose and xylose were very slightly used. Oxalic acid, maleic acid, tartaric acid, pyruvic acid, lysine, methionine, rhamnose, glucose, mannose, galactose and mannit did not exhibit perfectly the function of the hydrogen donators.

3. In *Undaria pinnatifida* f. *distans*, malonic acid, succinic acid, fumaric acid, glycolic acid, lactic acid, malic acid, glycine, alanine, valine, leucine, phenylalanine, tyrosine, serine, aspartic acid, glutamic acid, lysine, arginine, cystine, methionine, proline, tryptophane, histidine, creatine, betaine, taurine, arabinose, xylose, rhamnose, glucose, mannose, galactose and mannit were able to function as hydrogen donators, while maleic acid, citric acid and formic acid were very slightly used as the hydrogen donators. Oxalic acid, tartaric acid, pyruvic acid, acetic acid and *n*-butyric acid were not perfectly used.

4. In *Porphyra yezoensis*, malonic acid, succinic acid, maleic acid, fumaric acid, glycolic acid, lactic acid, malic acid, citric acid, formic acid, acetic acid, *n*-butyric acid, glycine, alanine, valine, leucine, phenylalanine, tyrosine, serine, aspartic acid, glutamic acid, lysine, arginine, cystine,

*昭和29年4月日本水産学会年会（東京）に於て講演

methionine, proline, tryptophane, histidine, creatine, betaine, taurine, arabinose, xylose, rhamnose, glucose, mannose, galactose and mannit were able to serve as the hydrogen donators, but oxalic acid, tartaric acid and pyruvic acid did not do so perfectly.

5. In *Iridophycus laminarioides*, malonic acid, succinic acid, maleic acid, fumaric acid, glycolic acid, lactic acid, malic acid, citric acid, formic acid, acetic acid, *n*-butyric acid, glycine, alanine, valine, leucine, phenylalanine, tyrosine, serine, glutamic acid, lysine, arginine, cystine, methionine, proline, tryptophane, histidine, arabinose, xylose, rhamnose, glucose, mannose, galactose and mannit functioned as the hydrogen donators. However, creatine, betaine and taurine were very slightly used. Oxalic acid, tartaric acid, pyruvic acid and aspartic acid did not serve perfectly.

高等植物に含まれている多種類の脂肪属及び芳香族の有機酸の中その分布が広く簡単に植物酸として知られているものはリンゴ酸，クエン酸，コハク酸，酒石酸及び蓚酸である。又これら程よく知られていないが，おそらく同じように広く分布しているものと思われるものにイソクエン酸，フマール酸，シスアコニツト酸，オキザロ醋酸及びα—ケトグルタール酸がある。

而してこれら有機酸の植物体内における生理的役割に関しては比較的最近まで全く不明であつたが，1927年に至り Kostytschev[1] は Ruhland その他[2] を支持し，有機酸はアミノ酸代謝の分解生産物であるとの結論に達した。然し今日では更に Krebs 及び Johnson[3] の研究によつて，これら植物酸は植物及び動物体における細胞呼吸の中心的役割を演じているものであることが解り，しかもこれら有機酸の生体内における生成径路については有名な Krebs の cycle によつて実験的にも証明された。

又更に H. Clark,[4] J. Bonner[5], C. H. Wadleigh[6] 及び H. B. Vickery[7] 等によつて植物酸は特に硝酸塩の吸収還元の際におけるイオンの平衡を維持するのに著しい作用を有し，残つたカチオンに釣合うように有機酸アニオンが生産されることが明らかにされた。即ちアンモニアの形で窒素を供給される植物は硝酸態窒素で生育した同じ植物よりも著しく酸濃度が低い。従つて硝酸窒素の供給はおそらく硝酸アニオンが還元された後細胞に残留する無機カチオンの集積に基づいて活潑に有機酸合成を促進するものと考えられる。

海藻にも亦これらの有機酸が体内に存在し，高等植物における如く或いは細胞呼吸の中心的役割を果し，或いは硝酸塩の吸収還元におけるイオンの平衡に与つていると思われるが，その存在及びかゝる生理的役割を支持する根拠はひとつもえられていない。

著者は前報[8] で海藻の窒素同化機構を究明するために先づ硝酸還元酵素について酵素作用力測定法を確立し，それに従つてえた各種海藻の酵素作用力を紹介し，更に数種の海藻について硝酸還元酵素作用力の最適 pH と最適温度を測定して環境要因との関連性を論究したが，こゝでは11種の有機酸，3種の低級脂肪酸，19種のアミノ酸，6種の糖及び1種の糖アルコールについてこれらが乳酸ソーダと同じように硝酸還元酵素の水素供与体として硝酸塩の還元に与るか否かを検討し，興味ある結果をえたので報告して参考に供する。

実　験　方　法

(1) 硝酸還元酵素液の調製

新鮮なる試料50gをとり，蒸溜水40cc，石英砂5gを加え，乳鉢にてよく擂砕した後綿布にて圧搾してえた汁液を遠心分離して沈澱を除き，上澄液に水を加えて50ccとした。かくするときは通常の酵素液に対し2倍の酵素力を有する。

(2) 硝酸還元酵素の水素供与体実験法

Thunberg Tube	Composition of Exp. Solution	
Main Chamber	—pH 7.17 $M/_{15}$ Sφrensen's Phosphate Buffer Solution	5 cc
	—Enzyme Solution	2
	—Water	1

Side Chamber	—0.011M KNO₃ Solution	1
	—0.2M Hydrogen Donator Solution (various)	1
	Tatal	10cc

水素供与体として乳酸ソーダの代りに種々の有機酸，脂肪酸，アミノ酸，糖及び糖アルコールの0.2M溶液を用いた。これは実験に供する有機酸，脂肪酸のソーダ塩が全てえられないために0.52M溶液を用いるとpHが著しく酸性側に移行するから0.2M溶液を用いることにした。

上述の内容液を20°C，10mm以下の真空度で1時間反応させたのち，20% Trichloracetic acid 0.5cc，活性白土1gを加え，はげしく振盪し，遠心分離してえられる上澄液を分取し，Griess—Ilosvay 試薬 2ccを加え，40°C,15分間加温して生ずる桃色の色調の度合により亜硝酸イオンの有無を定性的に比較検討した。

実　験　結　果

実験に用いた試料は緑藻ウスバアオノリ (*Enteromorpha Linza*)，アナアオサ (*Ulva pertusa*)，褐藻ナンブワカメ (*Undaria pinnatifida* f. *distans*)，紅藻スサビノリ (*Porphyra yezoensis*)，クロバギンナンソウ (*Iridophycus laminarioides*) の5種で，Table 1 はその実験結果を示したものである。尚表中の亜硝酸イオンの生成量については各々最適濃度の水素供与体を用いたわけではないので，厳密な意味での比較にならないが一応その多寡を比較して参考に供した。

Table 1 により明らかな如く有機酸の中マロン酸，コハク酸，フマール酸，グリコール酸，乳酸，リンゴ酸は緑藻ウスバアオノリ，アナアオサ，褐藻ナンブワカメ，紅藻スサビノリ，クロバギンナンソウいずれにおいても硝酸還元酵素の水素供与体となりえ，且ナンブワカメ，スサビノリにおいて乳酸及びリンゴ酸は亜硝酸イオンの生成量が顕著であつた。而してマレイン酸，クエン酸はスサビノリ，クロバギンナンソウにおいて明らかに亜硝酸イオンの生成が認められ，硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，ナンブワカメにおいて明らかには認められず，ウスバアオノリ，アナアオサにおいては全く認められなかつた（但しクエン酸はアナアオサにおいて痕跡的に亜硝酸イオンの生成が認められた)。

又低級脂肪酸である蟻酸，醋酸，正酪酸はスサビノリ，クロバギンナンソウにおいて明らかに硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，ウスバアオノリ，アナアオサにおいて亜硝酸イオンの生成は明らかには認められず，醋酸，正酪酸はナンブワカメにおいては全く認められず硝酸還元酵素の水素供与体とはなりえなかつた。而して蓚酸，酒石酸及び焦性ブドウ酸はこれら海藻のいずれにおいても硝酸還元酵素の水素供与体とはなりえないことを認めた。

一方アミノ酸の中グリシン，アラニン，バリン，ロイシン，セリン，グルタミン酸，アルギニン，シスチン，トリプトファン，ヒスチヂンはこれら海藻のいずれにおいても硝酸還元酵素の水素供与体となりえた。而してフェニールアラニン，チロシンはナンブワカメ，スサビノリ，クロバギンナンソウにおいて明らかに亜硝酸イオンの生成が認められ硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，アナアオサにおいて明らかには認められず，ウスバアオノリにおいては全く認められなかつた。リジンについても同様でナンブワカメ，スサビノリ，クロバギンナンソウにおいて顕著に亜硝酸イオンの生成が認められたが，ウスバアオノリ，アナアオサにおいては全く認められず，硝酸還元酵素の水素供与体とはなりえなかつた。而してアスパラギン酸はアナアオサ，ナンブワカメ，スサビノリにおいて亜硝酸イオンの生成が認められたが，ウスバアオノリ，クロバギンナンソウにおいては全く認められず，又プロリン，メチオニンはナンブワカメ，スサビノリ，クロバギンナンソウにおいて亜硝酸イオンの生成が明らかに認められ硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，ウスバアオノリ，アナアオサにおいてプロリンは明らかには認められず，メチオニンは全く認められなかつた。又クレアチン，ベタイン，タウリンはウスバアオノリ，アナアオサ，ナンブワカメ，スサビノリいずれにおいても亜硝酸イオンの生成が認められたが，クロバギンナンソウにおいて明らかには認められなかつた。

又アラビノース，キシロースはナンブワカメ，スサビノリ，クロバギンナンソウにおいて亜硝酸イオンの生成が明らかに認められ硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，アナアオサにおいて明らかには認められ

Table 1. Various organic matters used (+), very slightly used (±), or not (−) as hydrogen donator of nitrate reductase in five species of marine algae

No.	Species / Hydrogen donators	ウスバアオノリ *Enteromorpha Linza*	アナアオサ *Ulva pertusa*	ナンブワカメ *Undaria pinnatifida* f. *distans*	スサビノリ *Porphyra yezoensis*	クロバギンナンソウ *Iridophycus laminarioides*
1	Oxalic acid	−	−	−	−	−
2	Malonic acid	+	+	+	+	+
3	Saccinic acid	+	+	+	+	+
4	Maleic acid	−	−	±	+	+
5	Fumaric acid	+	+	+	+	+
6	Glycolic acid	+	+	+	+	+
7	Lactic acid	+	+	++	++	+
8	Malic acid	+	+	++	++	+
9	Tartaric acid	−	−	−	−	−
10	Citric acid	−	±	±	+	+
11	Pyruvic acid	−	−	−	−	−
12	Formic acid	±	±	±	+	+
13	Acetic acid	±	±	−	+	+
14	*n*−Butyric acid	±	±	−	+	+
15	Glycine	+	++	+	++	++
16	DL−Alanine	+	++	+	++	++
17	DL−Valine	+	+	+	++	+
18	L−Leucine	+	+	+	+	++
19	DL−Phenylalanine	−	±	+	+	+
20	L−Tyrosine	−	±	++	+	+
21	L−Serine	+	±	+	+	+
22	L−Aspartic acid	−	+	+	+	−
23	L−Glutamic acid	++	+	++	+	+
24	D−Lysine	−	−	++	++	++
25	D−Arginine	++	+	++	++	+
26	L−Cystine	+	+	+	+	+
27	DL−Methionine	−	−	+	+	+
28	L−α−Proline	±	±	+	+	+
29	L−Tryptophane	++	++	++	+	+
30	L−Histidine	+	++	++	++	+
31	Creatine	+	+	++	+	±
32	Betaine	+	+	+	+	±
33	Taurine	+	+	+	+	±
34	L(+)−Arabinose	−	±	+	+	+
35	D−Xylose	±	±	+	+	+
36	L(+)−Rhamnose	−	−	+	+	+
37	Glucose	−	−	+	+	+
38	Mannose	−	−	+	+	+
39	Galactose	−	−	+	+	+
40	Mannit	−	−	+	+	+

ず，ウスバアオノリにおいては全く認められなかつた（但しキシロースはウスバアオノリにおいて亜硝酸イオンの生成が痕跡的に認められた）。而してラムノーズ，グルコース，マンノース，ガラクトース，マンニツトはナンブワカメ，スサビノリ，クロバギンナンソウにおいて亜硝酸イオンの生成が明らかに認められ硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，ウスバアオノリ，アナアオサにおいては全く認められず硝酸還元酵素の水素供与体とはなりえなかつた。

考　　察

D. M. Eny[9]は暗中で緑藻 *Chlorella* の生長に対するコハク酸，フマール酸，乳酸，リンゴ酸，クエン酸，焦性ブドウ酸，シスアコニツト酸，醋酸，プロピオン酸及び酪酸の効果を実験したが，これらの有機酸及び脂肪酸は全てグルコースが供給されたときの生長に比し緩漫ではあつたが効果のあることを認め，しかもこれら有機酸の中で焦性ブドウ酸が最も効果的でプロピオン酸はその効果が最小であつたと報告している。故に著者の実験において最も効果的である筈の焦性ブドウ酸がいずれの海藻においても硝酸還元酵素の水素供与体となりえなかつたことは意外であるが，これは焦性ブドウ酸が乳酸の脱水素された構造を有することから寧ろ当然で恐らく生体内においては別の生理的役割を果すものであろうと思われる。又同様の事実は蓚酸及び酒石酸においても認められたが，これらの有機酸は Krebs cycle を構成する酸ではないので細胞呼吸に与る植物酸としてはその生理的意義もうすく，その存在もある限られた植物の限られた器官に存在するものではなかろうか。而してフマール酸の異性体であるマレイン酸の存在は従来植物体には認められないが，ウスバアオノリ，アナアオサにおいても硝酸還元酵素の水素供与体となりえなかつたのでその事実を暗示しているが，スサビノリ，クロバギンナンソウにおいて明らかに亜硝酸イオンの生成が認められ硝酸還元酵素の水素供給与体となりえたことは興味ある事実である。尙クエン酸はウスバアオノリにおいて硝酸還元酵素の水素供与体となりえなかつたがこれは例外的事実と解すべきであろう。

又片山[10]はアナアオサの揮発成分中に醋酸，プロピオン酸及び少量の正酪酸の存在を確認したが，著者の実験においても低級脂肪酸の中蟻酸，醋酸及び正酪酸はスサビノリ，クロバギンナンソウにおいて明らかに硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，ウスバアオノリ，アナアオサにおいて明確には認められなかつたのは硝酸還元酵素の作用力が弱かつたためと思われる。

V. S. Govindarajan & M. Sreenivasaya[11]は *Tamarindus indica* の葉の中にリンゴ酸及び酒石酸の存在を，*Oxalis corniculata* の葉から酒石酸及びクエン酸の存在を明らかにした。又 R. E. Stutz[12]は *Bryophyllum calycinum*, Tobacco, Tomato 及び Barley を種々の光の条件下で $C^{14}O_2$ の固定を行い，光合成の初期においてリンゴ酸の生成を認め，リンゴ酸に固定された C^{14} が時間の経過と共に蓚酸，コハク酸，グリコール酸，クエン酸，イソクエン酸に均等に移行することを認めている。著者の実験結果よりマロン酸，コハク酸，フマール酸，グリコール酸，乳酸，リンゴ酸，クエン酸はこれら海藻のいずれにおいても硝酸還元酵素の水素供与体となりえたので，海藻におけるこれら有機酸の存在も容易に推定されるのであるが，その存在については今後更に究明したいと考えている。尙海藻中には広くクエン酸の存在することが既に知られている。

又アミノ酸の中グリシン，アラニン，バリン，ロイシン，セリン，グルタミン酸，アルギニン，シスチン，プロリン，トリプトファン，ヒスチヂンはこれら海藻のいずれにおいても硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，これらのアミノ酸は海藻蛋白の成分として存在するばかりでなく遊離の形態においても広く海藻中に存在することは著者の実験においても認めたところであつて，グリシン，アラニン，グルタミン酸，アルギニン，トリプトファン，ヒスチヂン等を水素供与体として用いたときに亜硝酸イオンの生成が特に顕著であつたが，これらアミノ酸の海藻中におけを含量も亦比較的多いので実際にも吸収される硝酸塩の同化に関与しているものと思われる。

又興味ある事実として注目されるのはフェニールアラニン及びチロシンが褐藻ナンブワカメ及び紅藻スサビノリ，クロバギンナンソウにおいて明らかに亜硝酸イオンの生成が認められ硝酸還元酵素の水素供与体

となりえたが，緑藻ウスバアオノリにおいては全く認められず，アナアオサにおいてもその生成は痕跡的で緑藻における硝酸還元酵素の水素供与体になりうるとは認め難い事実である。これは A. Mazur & H. T. Clarke[13] が指摘している如く緑藻にはチロシンを全く含まない事実（但しフェニールアラニンは緑葉においても含む）を暗示するものか，或いは著者[14]の実験結果の如く緑藻中には褐藻，紅藻に比してチロシン含量が著しく少ないためによるものか判定しえないが，海藻中におけるこれらアミノ酸の生成機構を更に究明することによつてこの点を明らかにしたいと考えている。同様のことはリジンについても言えるが，緑藻におけるリジンの存在については同氏等[13]が同じく否定し，又著者[15]の実験においてもその存在を認めえなかつたのでこの実験結果はその事実を裏書きするものと思われる。又メチオニンについてもウスバアオノリ，アナアオサにおいては亜硝酸イオンの生成が全く認められず，ナンブワカメ，スサビノリ及びクロバギンナンソウにおいては辛じてその生成が認められる程度であつたので，海藻中におけるメチオニンの存在は極めて疑わしいと思われる。尚アスパラギン酸はウスバアオノリ及びクロバギンナンソウにおいて亜硝酸イオンの生成が認められなかつたが，これは硝酸還元酵素の作用力が弱かつたゝめと思われる。

F. J. Taylor[16] は緑藻 *Scenedesmus quadricauda* によつてグルコースが吸収され，aeration によつてその吸収速度を増すことを証明し，又 A. C. Neish[17] は *Chlorella vulgaris* に種々の糖を加えて生長に利用されるか否かを検し，グルコースが最も良好でマンノース，ガラクトース，ペントース，糖アルコール及び多糖類をも僅かに利用し，しかも糖を用いたときは窒素源としてアンモニアよりも硝酸塩をよく吸収同化する事実を述べている。更に J. L. Mendel[18] 等も暗中でトマトの葉における糖の減少は硝酸イオンの還元を減少せしめる事実を証し，糖が硝酸塩の還元に関与する事実を述べている。著者の実験においてもこれらの糖及び糖アルコールがナンブワカメ，スサビノリ，クロバギンナンソウにおいて明らかに硝酸還元酵素の水素供与体となりうることを認めたので，これらの糖及び糖アルコールが吸収される硝酸塩の同化に関与しているものと思われる。然し緑藻ウスバアオノリにおいてキシロース，アナアオサにおいてアラビノース，キシロースを水素供与体として用いたときにのみ亜硝酸イオンの生成が痕跡的に認められた他はいずれも硝酸還元酵素の水素供与体とはなりえなかつたが，これはこれらの藻類の硝酸還元酵素作用力が弱かつたことによるか，或いはラムノース，グルコース，マンノース，ガラクトース，マンニツトが緑藻における硝酸塩の同化に全く関与しないことによるかのいずれであるがこの点に関しては更に究明したいと考えている。

要　　　約

緑藻ウスバアオノリ，アナアオサ，褐藻ナンブワカメ，紅藻スサビノリ，クロバギンナンソウについて11種の有機酸，3種の低級脂肪酸，19種のアミノ酸，6種の糖及び1種の糖アルコールが硝酸還元酵素の水素供与体になりうるか否かを実験した。その結果

1. ウスバアオノリにおいてはマロン酸，コハク酸，フマール酸，グリコール酸，乳酸，リンゴ酸，グリシン，アラニン，バリン，ロイシン，セリン，グルタミン酸，アルギニン，シスチン，トリプトファン，ヒスチジン，クレアチン，ベタイン，タウリンは明らかに硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，蟻酸，醋酸，正酪酸，プロリン，キシロースは明らかには認められず，蓚酸，マレイン酸，酒石酸，クエン酸，焦性ブドウ酸，フェニールアラニン，チロシン，アスパラギン酸，リジン，メチオニン，アラビノース，ラムノース，グルコース，マンノース，ガラクトース，マンニツトは硝酸還元酵素の水素供与体とは全くなりえなかつた。

2. アナアオサにおいてはマロン酸，コハク酸，フマール酸，グリコール酸，乳酸，リンゴ酸，グリシン，アラニン，バリン，ロイシン，アスパラギン酸，グルタミン酸，アルギニン，トリプトファン，ヒスチジン，クレアチン，ベタイン，タウリンは明らかに硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，クエン酸，蟻酸，醋酸，正酪酸，フェニールアラニン，チロシン，セリン，プロリン，アラビノース，キシロースは明らかには認められず，蓚酸，マレイン酸，酒石酸，焦性ブドウ酸，リジン，メチオニン，ラムノース，グルコース，マンノース，ガラクトース，マンニツトは硝酸還元酵素の水素供与体とは全くなりえなかつた。

3. ナンブワカメにおいてはマロン酸，コハク酸，フマール酸，グリコール酸，乳酸，リンゴ酸，グリシン，アラニン，バリン，ロイシン，フェニールアラニン，チロシン，セリン，アスパラギン酸，グルタミン酸，リジン，アルギニン，シスチン，メチオニン，プロリン，トリプトファン，ヒスチヂン，クレアチン，ベタイン，タウリン，アラビノース，キシロース，ラムノース，グルコース，マンノース，ガラクトース，マンニツトは明らかに硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，マレイン酸，クエン酸，蟻酸は明らかには認められず，蓚酸，酒石酸，焦性ブドウ酸，醋酸，正酪酸は硝酸還元酵素の水素供与体とは全くなりえなかつた。

4. スサビノリにおいてはマロン酸，コハク酸，マレイン酸，フマール酸，グリコール酸，乳酸，リンゴ酸，クエン酸，蟻酸，醋酸，正酪酸，グリシン，アラニン，バリン，ロイシン，フェニールアラニン，チロシン，セリン，アスパラギン酸，グルタミン酸，リジン，アルギニン，シスチン，メチオニン，プロリン，トリプトファン，ヒスチヂン，クレアチン，ベタイン，タウリン，アラビノース，キシロース，ラムノース，グルコース，マンノース，ガラクトース，マンニツトは明らかに硝酸還元酵素の水素供与体とはなりえたが，蓚酸，酒石酸，焦性ブドウ酸は硝酸還元酵素の水素供与体とは全くなりえなかつた。

5. クロバギンナンソウにおいてはマロン酸，コハク酸，マレイン酸，フマール酸，グリコール酸，乳酸，リンゴ酸，クエン酸，蟻酸，醋酸，正酪酸，グリシン，アラニン，バリン，ロイシン，フェニールアラニン，チロシン，セリン，グルタミン酸，リジン，アルギニン，シスチン，メチオニン，プロリン，トリプトファン，ヒスチヂン，アラビノース，キシロース，ラムノース，グルコース，マンノース，ガラクトース，マンニツトは明らかに硝酸還元酵素の水素供与体となりえたが，クレアチン，ベタイン，タウリンは明らかには認められず，蓚酸，酒石酸，焦性ブドウ酸，アスパラギン酸は硝酸還元酵素の水素供与体とは全くなりえなかつた。

文　　献

1) Kostytschev, S. (1927). *Plant respiration.* Blakiston.

2) Ruhland, W. & Wolf, J. (1934). *Ann. Rev. Biochem.* **3**, 501.
———— & Wetzel, K. (1927). *Planta* **3**, 765.
———— & ———— (1929). *Ibid.* **5**, 503.

3) Krebs, H. A. & Johnson, W. A. (1937). *Enzymologia* **4**, 148.

4) Clark, H. (1936). *Plant Physiol.* **11**, 5.

5) Bonner, J. (1944). *Botan. Gaz.* **105**, 352.

6) Wadleigh, C. H. & Shive, J. W. (1939). *Am. J. Botany* **26**, 244.

7) Vickery, H. B., Pucher, G. W., Wakeman, A. J. & Leavenworth, C. S. (1940). *Conn. Agr. Expt. Sta. Bull.* 442.

8) 高木光造・村田喜一 (1954). 北大水産彙報 **4**, 296；**4**, 306；**4**, 310；**5**, 173.

9) Eny, D. M. (1950). *Plant Physiology* **25**, 478.

10) 片山輝久 (1953). 日水誌 **19**, 793.

11) Govindarajan, V. S. & Sreenivasaya, M. (1951). *Current Sci.* (India) **20**, 43.

12) Stutz, R. E. (1950). *Brookhaven Conference Rept.* **70** (C-13), 77.

13) Mazur, A. & Clarke, H. T. (1938). *J. Biol. Chem.* **123**, 729.

14) 高木光造 (1953). 北大水産彙報 **4**, 86.

15) ——— (1954). 同誌 **5**, 167.

16) Taylor, F. J. (1950). *Nature* **166**, 519.

17) Neish, A. C. (1951). *Can. J. Botany* **29**, 68.

18) Mendel, J. L. & Visser, D. W. (1951). *Arch. Biochem. Biophys.* **32**, 158.

カニ罐詰の細菌学的研究

第2報　二三のカニ罐詰の膨脹に就て（その2）

谷川英一・西村誠吾
（北海道大学水産学部水産食品製造学教室）

Bacteriological Studies on Canned Crab

II. Bacteriological studies on the swelling of canned crab (2)

Eiichi TANIKAWA and Seigo NISHIMURA

Abstract

The authors have studied from the viewpoint of bacteriology the cause of the swelling of the canned crab (*Paralithodes camtschatica*).

The following results were obtained.

(1) Aerobically and anaerobically isolated bacteria were facultative anaerobes.

(2) According to the various cultivating properties, the isolated bacteria were similar *Bac. mesentericus vulgatus* which has been formerly isolated by Tanikawa from the swelled canned crab.

(3) The heat resistance of the isolated bacteria is as follows: when the spore clots are filtered from the spore suspension, the spore survived for 8 minutes at 108.4°C, and are sterilized by 10 minutes' heating. But the spore suspension containing spore clots resists sometimes for 30 minutes' heating at the same temperature. The time for which the temperature of the center of the canned crab (a half pound can) was maintained at the retort temperature is only 8 minutes. If the bacterial number increased and the clots of spore are formed in the meat, the spores will resist the heating. They will survive after the processing and will cause swelling.

(4) The cause of the swelling of the canned crab was assumed to be that the heat resistant spore of the bacterium which is similar to *Bac. mesentericus* survived to form clots in the meat and that the raw material was unfresh.

著者等の研究室においてはカニ罐詰殺菌時間算出理論において対象となる耐熱性細菌の探索の為曩に著者の一人谷川は井上[1]と共に昭和25年度秋より昭和26年度にかけ釧路の○○産業株式会社工場及びその周縁の工場において生産されたタラバガニ罐詰及び同年度に○○漁業会社稚内工場において生産された同じくタラバガニ罐詰膨脹罐の原因につき究明し，何れも *Bac. mesentericus* 類似の細菌に依るものであることを明らかにした。筆者等は今回昭和27年度秋北見枝幸の○○罐詰会社工場で製造されたタラバガニ罐詰の中から原因不明の膨脹罐を多数出したのでその原因を究明することとなり，本研究を行つた。

実験の部

1. 実験材料

本実験に供した試料は前記の工場において昭和27年9月29日製造（殺菌は6封度80分間）し，膨脹したもの丶中2罐及び同じく10月2日製造し，膨脹せるもの2罐，合計4罐で，実験の便宜上前者を F，G罐，後

者を H，I 罐とし，以後実験には凡てこの呼称を以てすることとした。次に実験に供した試料罐の外観並びに開罐時の状態を示すと第1表(A)及び(B)の如くである。尚供試罐の原料の鮮度はやゝ不良という報告が

第 1 表 (A) 外 観 と 製 造 状 況

項目 ＼ 供試番号	F	G	H	I
品種	カニ2号膨脹罐	同左	同左	同左
製造月日	27. 9. 29	27. 9. 29	27. 10. 2	27. 10. 2
等級	フレーク A	フレーク A	Fancy	フレーク A
外観	膨脹	膨脹	膨脹	スプリンガー状※

※ I 罐のスプリンガー状のものは恒温器(37°C)放置中に膨脹した。

第 1 表 (B) 開 罐 後 の 状 況

	F	G	H	I
肉質	弾力なし	同左	同左	稍弾力あり
皮膚赤味部の色沢	赤褐色	淡赤褐色	赤褐色	淡赤褐色
香味	やや腐臭あり	やや腐臭	やや腐臭	普通臭に近し
液汁	溷濁	同左	やや溷濁	同左
揮発性塩基窒素量(肉100gにつきmg)	131.7	103.8	81.64	43.71
pH	6.1	6.0	6.2	5.7
巻締状態				
T/1000	62	63.5	60	61
W/1000	120	120	119	120
B.H./16	1	1	1	1
C.H.	1/16 稍少い	やや少い	3/64	やや少い

あつた。こゝで注意すべきことは本工場の近隣に嘗つて魚粕焚き場があり，土壌が細菌によつて汚染されているらしいという報告である。

第1表(B)で見る如く，試料罐の中 I -罐を除けば何れも始めより膨脹し，I -罐のみは始めスプリンガーを呈して37°Cの恒温器内に放置中に膨脹したものである。而して開罐後の肉の状態を見るに他の罐に比し，変敗が少いように見うけられた。開罐後これら試料罐の巻締状態をみるに幾分弛い気味であるが漏洩したものとは思われない。故にこれらの罐詰は殺菌不充分による細菌の繁殖に原因するものと推定せられた。

2. 細菌の分離

前記の4種の罐詰を前報[1]と同様の方法で好気的嫌気的に分離培養した4種の罐詰からそれぞれ1種の細菌を分離し得たがそれらを寒天斜面培養基に好気的に又葡萄糖寒天の斜面培養を Burri 氏嫌気性培養によつて嫌気的に夫々37°Cで培養してその発育状態を観察するに各菌共 1～2 昼夜で好気的にも嫌気的にも何れにも汚白色の集落の発育するのが認められた。尚嫌気的に葡萄糖寒天の斜面培養したものは斜面の一部に亀裂を生じ浮上つていた。各罐詰から分離した夫々の菌株を F′，G′，H′，及び I′ 菌と呼ぶ事とする。

3. 分離細菌の性質

(1) 顕微鏡的検査

i) 細菌の大きさの測定

純粋培養を一昼夜行つたものより塗抹標本を作り普通染色をなしその大きさを測定した。分離細菌は何れも両端円味を帯びた短桿菌でその大きさは次の如くである。

F′菌 2.4×1.12μ, G′菌 2.72×1.12μ, H′菌 2.88×1.12μ, I′菌 2.24×1.12μ.

ii）運動性

純粋培養より白金線にて釣菌し懸滴標本を作りその運動性をみた。F′及びI′菌は運動緩慢であるがG′及びH′菌は稍々活潑な運動をするのが認められた。

（2） 特別染色

各分離細菌の特別染色をしたがグラム染色の結果何れもグラム陽性，芽胞染色（Möller芽胞染色法）では何れも全部の菌種が胞子を有する事が判明した。又鞭毛染色ではF′, G′, H′, 及び I′とも極毛1本を有するものである事が判つた。

（3） 細菌の培養的性質検査

細菌の培養的性質を検査する為ヂェラチン平板培養，寒天平板培養，劃線培養，ヂェラチン穿刺培養，葡萄糖寒天穿刺培養，馬鈴薯培養，牛乳培養等を行つたがその結果は第2表〜第8表に示す如くである。

第2表 ヂェラチン平板培養

項目 ＼ 菌株	F′	G′	H′	I′
a. 集落の大きさ（直径）（mm）	0.07	0.07	0.084	0.084
b. 形状	点状	点状	点状	点状
c. 表面性質	凸円形に隆起し表面は粗糙	同左	同左	同左
d. 集落の内部構造	桑実状	同左	同左	同左
e. 集落の周辺	波形状又は円形	円形	波形状	波形状
f. 光学的性質	I.不透明で汚白色 II.集落のみ汚白色	同左	同左	同左
g. 液化性	液化	液化	液化	液化
液化の形状	盃状陥没	同左	同左	同左
液化部の外観	液化部稍々溷濁	同左	同左	同左

（註）本培養基は18°Cで放置し 18時間観察，40時間で基質液化する。

第3表 寒天平板培養（37°C培養）

項目 ＼ 菌株	F′	G′	H′	I′
a. 集落の大きさ（直径）（mm）	0.21	0.252〜0.308	0.168	0.070
b. 形状	点状	同左	同左	同左
c. 表面性質	凸円状に隆起し粗糙	同左	同左	同左
d. 内部構造	内部構造雲状	同左	同左	同左
e. 集落の周辺	繊毛状	波形状	同左	同左
f. 光学的性質	I.脂肪様不透明 II.集落のみ汚白色	同左	同左	同左

第 4 表　寒天劃線培養（37°C培養）

項目＼菌株	F′	G′	H′	I′
a. 形状	棘皮状	同左	同左	同左
b. 表面性質	I. 緩隆起状 II. 粗糙	同左	同左	同左
c. 集落の周辺	糙状	耳形状	縺状	裂片状
d. 光学的性質	脂肪様光沢	同左	同左	同左
e. 色素生産	なし	なし	なし	なし
f. 密度	皮膜質	同左	同左	同左
g. 基質の変色	なし	なし	なし	なし

第 5 表　ヂェラチン穿刺培養（17°C）

項目＼菌株	F′	G′	H′	I′
基上表面発育	扁平状円滑	同左	同左	同左
穿刺線状態	糸状	同左	同左	同左
液化状態	噴火口状	同左	同左	同左
液化ヂェラチン	表面皮膜形成の性状	同左	同左	同左

第 6 表　葡萄糖寒天穿刺培養

項目＼菌株	F′	G′	H′	I′
表面発育状態	隆起状	同左	同左	同左
穿刺線状態	棘皮状	同左	同左	同左

第 7 表　馬鈴薯培養

項目＼菌株	F′	G′	H′	I′
a. 形状	不規則形	同左	同左	同左
b. 表面性質	皺層状	同左	同左	上部皺層状で下部は水膨の如し
c. 周辺	耳形状	侵蝕状，耳形状	耳形状	耳形状
d. 光学的性質	不透明脂肪様	同左	同左	同左
e. 色素生産	灰白色及び黄灰色集落より基質の方が濃色	同左	同左	同左
f. 密度	牛酪質	同左	同左	同左
g. 臭気	有，弱	有，やや強	有，強	有，弱
h. 基質の変色	黒褐色となる	同左	同左	淡褐色

第8表　牛　乳　培　養

項目 ＼ 菌株	F′	G′	H′	I′
a. 反応	酸性	同左	同左	同左
b. 臭気	有，弱	有，強	有，弱	有，強
c. 瓦斯形成	?	?	?	?
d. 密度	ペプトン化	同左	同左	同左
e. 凝固部の性質	I.軟 II.完全ペプトン化 III.液透明	同左	同左	同左
f. 乳精	少量，溷濁	同左	同左	同左

以上の諸性質より考察するに分離細菌の菌株は4株あつたがその諸性質は大同小異であつて，何れも谷川等[1]が曩に分離した *Bac. mesentericus vulgatus*[2] に類似するものと思われる。

4. 今回分離された細菌の耐熱性

供試罐詰は何れも第1表(A)に示す通り常法通り加熱殺菌されたものであり，その巻締状態をみても罐の漏洩によつたものとは思われないので分離細菌の耐熱性が問題となつてくる。こゝで分離した4菌株についてその耐熱性試験を行つた。

(1) 胞子凝塊を残さない様にした場合の耐熱性

37°Cで10日間寒天斜面培養した菌株の菌苔を2白金耳とりこれを燐酸塩緩衝液（pH 7.0）に入れよく混合攪拌し浮游液を作りこれを滅菌濾紙（東洋濾紙 No. 5 C）を用いて胞子凝塊を除去し細菌胞子原液（1 cc 中の胞子数は別記の如くである）を作りその1 cc 宛を小形試験管に入れ綿栓をゴムキャップで包被し小型レトルト内で5封度(108.4°C)で6，8，10，12分間加熱しその残否を検査した。その結果は第9表の如くである。

第9表　分離細菌の胞子浮游液を濾過し5封度加熱(108.4°C)に於ける耐熱性

菌株	F′ 菌	G′ 菌	H′ 菌	I′ 菌
加熱時間 ＼ 胞子数	79×10^3	22.8×10^3	14.4×10^3	21.8×10^3
6 分 間	+++	+++	+++	+++
8 分 間	+++	++−	+−−	+−−
10 分 間	−−−	−−−	−−−	−−−
12 分 間	−−−	−−−	−−−	−−−

この結果に依れば分離細菌は胞子濃度10^4程度で108.4°C（5封度加熱）では6分間の加熱で完全に残存するが8分間では生死の境界にある。10分間の加熱では完全に死滅する。谷川及び子野日[3]の研究によつても明らかな様にカニ罐詰製造の際の加熱殺菌において半封度罐の殺菌温度108.4°C(5封度)で加熱するに罐内の中心温度が108.4°Cに達している時間は8分間である。此の時間は分離細菌が加熱殺菌前肉中に存在していて胞子が凝塊を作らない時は丁度分離細菌の加熱致死時間の境目である事が判る。

(2) 胞子凝塊をそのまゝにした場合の耐熱性

次に前記と同じく37°Cで10日間寒天斜面培養した各菌株の菌苔を各2白金耳宛とりこれを燐酸塩緩衝液（pH 7.0）に入れよく混合攪拌するが前記の如く濾過せず浮游液中に胞子凝塊をそのまゝ残存せしめてその1 cc宛（この1 cc中の胞子数は表中に別記する）を用いて前回同様加熱してその致死時間を見たがその実験

結果は第10表の如くである。

第10表　分離細菌の胞子浮游液を濾過せず胞子凝塊を残したまま加熱した時の耐熱性

菌株	F′菌	G′菌	H′菌	I′菌
加熱時間＼胞子数	2×10^6	3×10^5	2×10^6	6×10^5
6 分間	+++	+++	+++	+++
8 分間	+++	+++	+++	+++
10 分間	++−	+−−	+++	+−−
12 分間	+−−	−−−	++−	−−−
20 分間	+−−	+−−	+−−	−−−
30 分間	++−	−−−	++−	−−−

第10表から明らかな如く胞子凝塊が残存する時は胞子の耐熱性にskipを生じているのが見られる。即ち第9表の如く濾過した場合と異り耐熱性は108.4°Cでは8分間では完全に残存するが，10分間以上の加熱ではskipが明らかに認められるのである。而して全般的にみても耐熱性はやゝ強くなつている様である。此の事から考えれば罐詰の中心温度がレトルト内温度と同じになつている時間と細菌胞子の加熱致死時間とが略々等しい時に，もし原料に附着した細菌が凝塊を作つておれば加熱殺菌の際skipを生じ加熱に耐えて残存し膨脹の原因となる。

要　約

膨脹タラバガニ罐詰についてその原因を細菌学的に検索した結果は次の如くである。

(1) 本研究に供試した膨脹タラバガニ罐詰は，○○漁業株式会社北見枝幸工場において製造したものである。

(2) 該罐詰より分離した細菌は好気的嫌気的何れにも発育する通性嫌気性細菌である。

(3) 分離細菌の培養性質から見て谷川が先に分離した *Bac. mesentericus vulgatus* に類似するものと思われる。

(4) 分離細菌の耐熱性は胞子浮游液を濾過し凝塊を除いた時は108.4°Cで8分間で生死の境にあり10分間の加熱で完全に死滅する。併し胞子凝塊を残したものは同温度で30分間でもskipの為残存するものも出て来る。従つてタラバガニ半封度罐の殺菌の際罐内温度がレトルト内温度と同じになつている時間が約8分間であるため肉中に細菌の数が増加し胞子の凝塊が多数存在する時は罐詰の殺菌加熱にも耐え得て残存し膨脹の原因となる可能性も大である。

文　献

1) 谷川・井上 (1952). カニ罐詰の細菌学的研究. 第1報　二三のカニ罐詰の膨脹について（その1）. 北大水産彙報 3 (1), 95—103.

2) Bergey, D. H., Breed, R. S., Murray, E. G. D. & Hitchens, A. P. (1939). *Bergey's Manual of Bacteriology*. 647. Baltimore; The Williams & Wilkins Co.

3) 谷川・子野日 (1954). カニ罐詰の細菌学的研究. 第3報 二三の毛ガニ罐詰の膨脹について（その3）. 北大水産彙報 5 (3), 189—201.

カニ罐詰の細菌学的研究

第3報 二三のカニ罐詰の膨脹に就て（その3）

谷川英一・子野日衛
（北海道大学水産学部水産食品製造学教室）

Bacteriological Studies on Canned Crab

III. Bacteriological studies on the swelling of canned crab (3)

Eiichi TANIKAWA and Mamoru NENOHI

Abstract

The authors have this time studied from the standpoint of bacteriology the cause of the swelling of the canned crab (*Erimacrus isenbeckii*). The following results were obtained.

(1) Aerobically and anaerobically isolated bacteria were facultative ananerobes. There were two species of the bacteria.

(2) One species of the isolated bacteria was long rod and the other was short rod. Both species formed spores.

(3) According to the investigated results of the cultivating characteristic of the isolated bacteria, the ability to liquefy gelatine of both species was strong and they formed hydrogen sulfide.

(4) The heat resistance of the isolated bacteria was as follows: When the number of spores in the spore suspension was below 10^4, they were sterilized in 5 minutes at 108.4°C, but when the number of spores was $10^6 \sim 10^7$, they survived 20 ~ 40 minutes' heating at the same temperature.

(5) The isolated bacteria were ascertained to be the cause of the swelling of the canned product.

(6) According to the various properties of the isolated bacteria, as shown by cultivation one of them is similar to *Bac. megatherium* and the other to *Bac. mesentericus vulgatus*.

(7) The isolated bacteria were not originated from factory water or from the soil around the door of the factory, that is to say, they were not originated from contamination after transportation of raw crab into the factory.

(8) The cause of the swelling is assumed to be that the number of the isolated bacteria attached formerly to the raw material of crab meat increased with the decline in the freshness of the meat. When the number of spores increased above 10^4, and the spore survived after the processing of the canned product, they caused the swelling of the can. Therefore the raw material should be handled and processed within the fresh state of the meat.

曩に谷川[1,2]はタラバガニ罐詰の膨脹したものについてその原因細菌と思われるものを分離し，その耐熱性試験を行い，更にそれ等分離細菌を罐詰に再接種してそれら細菌が膨脹の原因となつたことを確めたのであるが，今回は毛ガニ罐詰の膨脹したものの原因細菌につき研究し，尚タラバガニと毛ガニ罐詰の膨脹を起す菌種に差異があるか否か，等についても研究したのでこゝに報告する。尚本研究の試料とした毛ガニ罐詰は○○水産株式会社○○工場において昭和26年6月23日，7月20日製造したものの中，膨脹したもの2罐で

同時に発生した膨脹罐は何れも刺戟性の臭気を出しており，現場視察の際，原料カニの数量も少く，遠近から集荷しているため鮮度の落ちているものも見受けられた。

実　験　の　部

1. 試　料

本研究に供試した膨脹罐2個を夫々J，Kと称することとした。開罐時の状態は第1表の如くである。

第1表　毛ガニ試料罐詰開罐時の状態

項目＼試料種類	J	K
外観	外観スプリンガー状，開罐と同時に悪臭ガス噴出	Hard swell，指で押すも凹まず開罐と同時に悪臭ガス噴出
肉質	固形部分なく，全部ソボロ状で弾力なく，繊維質はバラバラで開罐時の崩れ肉は稍々とけていた	完全に肉崩れし，肉質と液汁の差認められない様な状態
色沢，香気	正常罐の肉より薄い色，カニ特有の香気も存するが刺戟性強し	肉の灰白色で液は溷濁し，刺戟性の悪臭強し
液汁のpH	液は溷濁し，pH 6.6	液は灰白濁しpH 7.2
巻締状態	第一ロール，第二ロールともにゆるく巻締幾分甘く感じられるが漏洩の心配はないようである	第1ロール，稍々強く，他は正常で漏洩のおそれなし

2. 細菌の分離

前記の2個の罐詰を試料とし，第1報[1]と同様の方法で好気的，嫌気的に細菌を分離した。2個の罐詰から夫々2菌株づゝのものを得た。J罐よりの分離菌株をJ′-1，J′-2とし，K罐よりのものをK′-1，K′-2とした。J′-1菌，K′-1菌は何れも長桿菌で，J′-2菌及びK′-2菌は何れも短桿菌であつた。これ等分離細菌が偏性嫌気性細菌か，通性嫌気性細菌かをみるために好気的に発育した菌株を更に嫌気的に（改良Manteufel氏嫌気的培養法により），又嫌気的に発育した菌株を好気的に培養したところ，何れも発育したので通性嫌気性細菌であることを認めた。

3. 分離細菌の顕微鏡的検査

分離細菌の顕微鏡的検査を行つた結果は第2表の如くである。

第2表　分離細菌の顕微鏡的検査

項目＼菌株	J′—1	J′—2	K′—1	K′—2
a. 大きさ	長桿菌 (3.3×0.83μ)	短桿菌 (2.5×1.3μ)	長桿菌 (3.3×0.83μ)	短桿菌 (2.3×1.3μ)
b. 運動性	緩漫運動	活潑な運動	緩漫運動	活潑な運動
c. 鞭毛染色	極毛1本	同左	同左	同左
d. 芽胞染色	菌体中央に芽胞あり	同左	同左	同左
e. グラム染色	陽性	同左	同左	同左

4. 分離細菌の培養的性質検査

分離細菌の諸種培養基上における性質を検査した結果は第3表乃至第10表の如くである。

第 3 表　チェラチン平板培養性質

項目＼菌株	J′—1	J′—2	K′—1	K′—2
a. 集落の大きさ（直径）	0.42〜0.50mm	0.33〜0.42mm	0.33〜0.42mm	0.25〜0.33mm
b. 形状	点状	同左	同左	同左
c. 表面性質	凸円状	同左	同左	同左
d. 内部構造	周辺顆粒状，内部不明	同左	同左	同左
e. 集落の周縁	波形不定形	波形又は円形	波形又は不定形	波形又は円形
f. 光学的性質	汚白色	同左	同左	同左
g. 液化性	液化	同左	同左	同左
形状	盃形陥没	同左	同左	同左
外観	液化部稍々濁る	同左	同左	同左

（註）本培養は16°〜23°Cの常温で培養したもので J'—1，K'—1は 2 昼夜，J'—2，K'—2は約 2 昼夜半で液化が急速に進行する。

第 4 表　寒天平板培養性質

項目＼菌株	J′—1	J′—2	K′—1	K′—2
a. 集落の大きさ（直径）	0.33〜0.50mm	0.30〜0.60mm	0.33〜0.66mm	0.30〜0.42mm
b. 形状	点状、円形	点状	同左	同左
c. 表面性質	凸円状に隆起し，表面の構造は粗糙	同左	同左	同左
d. 内部構造	周辺顆粒状内部不明	周辺雲状，内部不明	内部不明	同左
e. 周縁	波動状又は侵蝕状	切裂状	同左	同左
f. 光学的性質	不透明、汚白色	不透明	同左	同左

（註）本培養は37°C，1 昼夜のものについて観察した。

第 5 表　寒天劃線培養性質

項目＼菌株	J′—1	J′—2	K′—1	K′—2
a. 形状	羽毛状	同左	樹枝状	羽毛状
b. 表面性質	隆起状，粗糙	同左	同左	同左
c. 周辺	耳形状	同左	同左	波動状
d. 光学的性質	白亜様光沢	磁器様光沢	白亜様光沢	磁器様光沢
e. 色素生産	なし	なし	なし	なし
f. 密度	牛酪質	皮膜質	牛酪質	皮膜質
g. 臭気	有弱	なし	有弱	有弱
h. 培養基の変色	なし	なし	なし	なし

（註）37°Cで1〜2昼夜発育のものを観察した。

第 6 表　チェラチン穿刺培養性質

項目 ＼ 菌株	J′—1	J′—2	K′—1	K′—2
a. 基上表面発育	扁平状円滑	同左	同左	同左
b. 穿刺線発育	糸状	同左	同左	同左
c. 液状々態	噴火口状	同左	同左	同左
d. 液化チェラテンの性状	液化部上層溷濁，下部半透明	表面皮膜形成，液化部上層溷濁，下部半透明	液化部上層溷濁，下部半透明	表面皮膜形成，液化部上層溷濁，下部半透明

（註） 16°〜23°Cで2昼夜で液化し始め，4昼夜で完全液化する。

第 7 表　葡萄糖寒天穿刺培養性質

項目 ＼ 菌株	J′—1	J′—2	K′—1	K′—2
a. 表面発育状態	隆起，蜂窩状（汚白色）	隆起，波動状（汚白色）	隆起，蜂窩状（汚白色）	隆起，地形状（汚白色）
b. 穿刺線発育状態	棘皮状(瓦斯発生)	同　左(瓦斯発生)	同　左(瓦斯発生)	同　左（瓦斯発生甚だし）

（註） 37°Cで2昼夜培養のものを観察した。

第 8 表　寒天穿刺培養性質

項目 ＼ 菌株	J′—1	J′—2	K′—1	K′—2
a. 表面発育状態	皮膜形成，皺層状	稍々扁平，侵蝕状	扁平侵蝕状	扁平皺層状
b. 穿刺線発育状態	漏斗状	棘皮状	棘皮状（下部発育悪し）	同左

（註） 37°Cで2〜3昼夜培養のものを観察した。

第 9 表　馬鈴薯培養性質

項目 ＼ 菌株	J′—1	J′—2	K′—1	K′—2
a. 形状	不規則状	羽毛状	不規則状	同左
b. 表面性質	隆起状，水膨状	隆起状，皺層状	隆起状，皺層状	隆起状，水膨状
c. 周縁	侵蝕状	裂片状	侵蝕状	波形状
d. 光学的性質	白亜様光沢	同左	同左	同左
e. 色素生産	集落，基質共褐黄色	集落，基質共灰褐色	集落灰白色，基質褐黄色	集落灰白色，基質灰黄色
f. 密度	粘着質	牛酪質	同左	粘着質
g. 臭気	有強	同左	同左	同左
h. 培養基の変色	黄褐色	灰褐色	黄褐色	灰黄色

（註） 37°Cで1〜4昼夜培養のものを観察した。

第10表　牛乳培養性質

項目＼菌株	J′—1	J′—2	K′—1	K′—2
a. 反応	pH 6.6	pH 6.6	pH 5.6	pH 5.4
b. 臭気	有，強	有，強	有，強	有，弱
c. 瓦斯形成	?	?	?	?
d. 密度	ペプトン化	同左	同左	同左
e. 凝固部の性質	I.軟，II.完全ペプトン化，III.液透明	同左	同左	同左
f. 乳精	少量溷濁	同左	透明	同左

（註）37°Cで1昼夜培養のものを観察した。

5. 分離細菌の類縁

尚前記の如き顕微鏡検査，培養検査の外に硫化水素の発生及びインドール生成をみたが，全菌株は何れも硫化水素を形成するがインドール反応は全菌株とも生成しない。以上の如き諸性質を有するが，J′-1とK′-1及びJ′-2とK′-2とは類似し，2種の菌株であると思われる。これを Bergey's Determinative Bacteriology[3] に照合すればJ′-1とK′-1は何れも *Bac. megatherium* に類似の細菌であり，J′-2及びK′-2は何れも *Bac. mesentericus vulgatus*に類似することを認めた。尚分離された菌株は何れもヂェラチンの液化力が強かつた。後者の菌種は曩に筆者の一人谷川が屢々タラバガニ罐詰の膨脹罐より分離したものであり，カニ肉の種類の差異による菌数の差異は認められない。

6. 分離細菌の耐熱性

（1） 試料罐詰肉を加熱した場合の肉中細菌の耐熱性

第11表　開罐時の試料カニ肉中の細菌の耐熱性

	J罐			K罐		
4封度（106.9°C）30分	+	+	+	±	+	+
〃 60分	+	+	+	+	+	+
5封度（108.4°C）30分	±	±	±	±	±	−
〃 60分	−	−	−	−	−	−
6封度（109.9°C）30分	−	−	−	−	−	−
〃 60分	−	−	−	−	−	−

先づ開罐の際，採集した試料罐の肉を滅菌試験管に入れ，オートクレーブで第11表の如く加熱し，後滅菌ピンセットで小片を葡萄糖ブイオン中に接種し37°Cで培養し生死を検した。この耐熱性試験は開罐時であるため，細菌も純粋分離されておらず混合細菌の耐熱性となつている。加熱に依る残存細菌を鏡検するに4封度30分間の加熱ではJ,K罐共に2種の細菌が連鎖状に存在しているが，4封度60分，5封度30分間の加熱では長桿菌が多く，しかも4封度30分間に於けるが如く連鎖状には存在していなかつた。

（2） 純粋培養について行つた耐熱性

試料罐より分離した純粋培養J′-1，J′-2及びK′-1，K′-2について耐熱性を次の如くして行つた。

（i） 肝々ブイオンにて増菌した場合

純粋分離された細菌を肝々ブイオンに接種し10日間37°Cで培養増菌しこれを滅菌した東洋濾紙 No.5Cを

用いて胞子凝塊を除きその濾紙 1cc を生理的食塩水をもつて 1/10) に稀釈しオートクレーブにて加熱しその耐熱性をみた。その実験結果は第12表の如くである。尚胞子数はトーマ血球計で測定した。

第 12 表　肝々ブイヨン中にて増菌し，耐熱性試験を行つた結果

加熱温度時間 ＼ 菌株 / 胞子数	J′—1			J′—2			K′—1			K′—2		
	246×10³			213×10³			243×10³			173×10³		
4封度（106.9°C）30分	±	+	+	+	+	−	±	±	±	+	±	−
〃　〃　60分	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
〃　〃　80分	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5封度（108.4°C）30分	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
〃　〃　60分	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
〃　〃　80分	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
6封度（109.9°C）30分	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
〃　〃　60分	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
〃　〃　80分	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

第11表と第12表とを比較するに試料罐詰肉を加熱した場合は大体5封度（108.4°C）30分間の加熱まで耐え得るが，純粋培養を稀釈して耐熱性試験を行つた場合は4封度（106.9°C）30分間となりその耐熱性は減少している。これは恐らく熱伝導の差異と細菌数の差異によるものと考えられる。

（ii）胞子数の差異による耐熱性の差異

次に前記の如くJ′-1とK′-1並びにJ′-2とK′-2はその培養性質，顕微鏡的性質から同菌種と見做されるので前者をMg-菌，後者をMs-菌として，生菌数の多少による耐熱性の差異をみた。即ちMg-菌及びMs-菌をそれぞれ肝々ブイオンにて37°Cで10日間培養をつゞけ後これを前記と同じく濾過し，胞子数を測定し，生理的食塩水にて適宜稀釈して耐熱性試験を3回宛行つた。その結果は第13表の如くである。

第 13 表　胞子数の多少による耐熱性の差異

胞子の多少	胞子数の少い場合						胞子数の多い場合					
菌種	Mg-菌			Ms-菌			Mg-菌			Ms-菌		
加熱温度と時間 ＼ 胞子数	10×10³			8×10³			11×10⁵			7×10⁵		
5封度（108.4°C）5分	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
〃　10分	±	−	−	±	−	−	+	+	+	+	+	+
〃　15分	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	+	+
〃　20分	−	−	−	−	−	−	−	±	±	−	±	±

第13表の結果からみるに，胞子数の少い場合は両菌種とも5封度（108.4°C）5分間の加熱では残存するが，10分間となれば殆んど死滅している。ところが胞子数の多い場合は両菌種とも10分間まで残存するが，15分間では死滅する場合もある。

（iii）発育培地の差異による耐熱性の差異

次に供試菌の発育培地の差異による耐熱性の差異をみるために，カニ肉エキス，普通ブイオン，肝々ブイ

オンに供試菌を発育せしめ，これを前記同様濾過し，胞子数を測定し，生理的食塩水にて適宜稀釈し，耐熱性試験を行つた。その結果は第14表の如くである。

第 14 表　発育培地を異にした場合の耐熱性の差異

発育培地	カニ肉汁エキスにて培養		普通ブイオンにて培養		肝々ブイオンにて培養	
菌種	Mg-菌	Ms-菌	Mg-菌	Ms-菌	Mg-菌	Ms-菌
加熱温度と時間＼胞子数	33×10^6	54×10^6	26×10^6	70×10^6	47×10^6	44×10^6
5封度(108.4°C) 5分	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 10分	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	−＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 15分	＋＋＋	＋＋＋	−＋＋	−＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 20分	＋＋＋	＋＋＋	−＋＋	−＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 25分	−−−	−−＋	−−＋	−−−	−−−	−−−
〃 30分	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−
〃 40分	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−
〃 50分	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−
〃 60分	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−

第14表の結果より発育培地の種類による差異をみるに，何れも5封度（108.4°C）20分間の加熱までは残存するが，培地の種類による差異はさほど認められなかつた。併し前項の試験結果を裏書する如く，今回の如く胞子数の多くなつた場合にはその耐熱性も増大していることがみられている。

（iv） 胞子稀釈液（加熱用浮游液）の差異による耐熱性の差異

供試菌の胞子を稀釈して加熱する場合，前項迄は生理的食塩水を用いたが，今回はカニ肉汁エキス（pH6.8）と燐酸塩緩衝液（0.2M-Na_2HPO_4，0.1M-クエン酸，pH7.0）を用いて胞子を稀釈し，それを加熱してその耐熱性をみた。カニ肉汁エキスはカニ肉100gを1lの水の中に入れ煮熟してガーゼで濾過したものである。その結果は第15表の如くである。

第 15 表　稀釈液を変えた場合の耐熱性の差異

胞子稀釈液	カニ肉汁エキス		燐酸塩緩衝液	
菌種	Mg-菌	Ms-菌	Mg-菌	Ms-菌
加熱温度．時間＼胞子数	100×10^6	80×10^6	100×10^6	80×10^6
5封度(108.4°C) 5分	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 10分	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 15分	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 20分	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 25分	−＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 30分	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋
〃 40分	±±−	±−−	±±±	±±±
〃 50分	−−−	−−−	−−−	−−−
〃 60分	−−−	−−−	−−−	−−−

第15表の結果からみてもカニ肉エキス又は燐酸塩緩衝液何れを使用するも余り差異は認められなかつた。

以上の如く2種の分離細菌の耐熱性試験における条件を種々に変えて実験したが，それらの中で，耐熱性に最も影響をもたらすのは胞子数（即ち胞子濃度）であつて胞子数10^3〜10^4ではカニ罐詰殺菌温度の5封度

(108.4°C）では5分間，胞子数が10^6 ～10^7 では20～40分間，耐えうることが判つた。胞子の濃度が耐熱性に大なる影響を及ぼすことは最近，坂口及び天羽[4]両氏の研究によつて明らかにされているところである。

7. カニ罐詰（半封度罐）内熱傳導試験

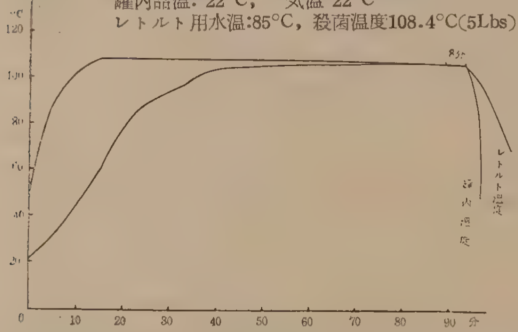
元来カニ罐詰においては熱の伝導度が悪く，罐内温度はレトルト温度よりも遥かにおくれて上昇する。毛ガニ半封度罐を用いて熱伝導試験を行つた結果は第1図の如くである。

第 1 図

毛蟹罐詰（½Lbs 罐）の熱伝導度

罐内品温: 22°C，　気温 22°C

レトルト用水温:85°C，殺菌温度108.4°C(5Lbs)



第1図でみられる如くレトルトの温度が殺菌温度108.4°C（5封度）に達してから72分後に罐内中心温度も108.4°Cに達している。従つてレトルト温度 108.4°Cで80分間殺菌するとすれば，罐詰中心が108.4°Cにて加熱される時間は8分間にすぎない。従つて今回分離された細菌の耐熱性は胞子数が10^4 以下では5分間の加熱で死滅されるが，10^6 以上では20分間の加熱でも殺滅されないので，結局残存して腐敗を起すこととなる。

8. 原料毛ガニ肉の鮮度と細菌数との関係

本研究に供した試料より分離せる細菌は捕獲後何らかの機会に原料に附着し肉詰後殺菌加熱に耐え，残存し，繁殖したものであり，同一処理で同一温度で殺菌せるものでも多数の正常罐を出しているところからみて原料の鮮度の悪いもの即ち附着細菌の多いものが変敗罐を出したものと思われる。谷川[5]等は先に“カニ罐詰製造に関する研究”において毛ガニを22°～24°Cにおいて放置したときの生菌数の変化をみ次の第16表の如き結果を得ている。

第 16 表　生毛ガニ放置中の生菌数の変化（1g当り菌数，22°～24°C）

放置時間	丸のまま放置		脱甲後放置	
	肩肉	脚肉	肩肉	脚肉
0	——	——	——	——
12	——	——	5.3×10^3	34×10^4
14	31×10^4	5.5×10^5	1.1×10^6	50×10^6
30	16×10^5	27×10^5	37×10^4	42×10^6
35	32×10^5	28×10^5	——	——
55	21×10^6	56×10^6	15×10^6	18×10^6
60	46×10^6	42×10^6	60×10^7	22×10^7

第16表にみる如く，生菌数は原料の鮮度の低下と共に増加してゆくことが分る。尚丸のまゝ放置したものを脱甲後放置したものと比較すると両者共に著しい差異は認められないが脱甲後放置したものでは肩肉は脚肉より稍々生菌数が多いように思われた。この22°C位の気温における原料の最大放置許容時間は13時間である。原料の最大放置許容時間内に処理すれば生菌数は10^4 以下であるが，最大放置時間を超過すれば10^5 以上となる。又一方生毛ガニ（洗滌後）の生菌数が14×10^3 のものが，煮熟冷却後は5×10^3 となり，脱気巻締直後で36×10^3，同60分後には63×10^3 であり，脱気時間が遅延すれば生菌数も増加する。この鮮度と細菌数との関係を耐熱性試験結果と比較するに，カニ原料を放置するとか，巻締後殺菌前長時間放置すれば附着細

菌は殺菌加熱に対しても抵抗して残存するとととなる。

9. 分離細菌の再接種試験

分離細菌を正常毛ガニ罐詰内に再接種して膨脹するか否かを見た。即ち正常毛ガニ罐詰4ケを開罐し，これを半封度罐に詰め直し，その中心部にMg-菌の少数胞子試料として1ケの罐に1cc当り23×10²；多数胞子試料として別の1ケの罐に1cc当り40.8×10⁶を再接種し，又他の2罐にはMs-菌を1cc当り18×10²及び17×10⁶を夫々別々に再接種して100°Cで10分間の脱気後5封度(108.4°C)で80分間加熱殺菌を行い，冷却後37°Cの恒温器内に入れ放置したところ，少数胞子を再接種したものは膨脹しなかつたが，多数胞子を再接種したものはMg-菌，Ms-菌何れを接種したものも3日目に膨脹を来たした。この膨脹したものから細菌を前項と同じく分離したところ，その培養性質，顕微鏡的性質共に接種細菌と同一であることを認めた。これにより耐熱性試験の結果とも照合して膨脹原因は殺菌に際し，細菌が完全に殺菌されずに残存し，膨脹変敗の原因となつたことが確認された。

10. 分離細菌の来源

変敗罐詰の原因としては，罐詰製造完了前に漁獲時より附着せる細菌の繁殖（鮮度低下とともに），製造中使用した用水，工場内外部の汚染（土壌細菌），殺菌不完全（又は罐内残存細菌の発育），罐の漏洩（空気中の細菌）等があげられるが，本試料の変敗罐詰は巻締不良でないのであるから，こゝに変敗罐詰より分離された細菌の来源を究めんとして製造用水及び工場の入口附近の土壌について好気的，嫌気的に細菌分離を行い，製造用水よりは通性嫌気性細菌1種（W′-1）と，土壌中よりは通性嫌気性細菌2種(S′-1，S′-2)を分離してその顕微鏡的性質，培養性質，耐熱性等を調べた。その結果は第17表乃至第19表の如くである。

第17表　顕微鏡的性質

項目 ＼ 菌株	W′—1	S′—1	S′—2
普通染色	長桿菌，連鎖状をなすものもあり単在多い	長桿菌，連鎖状でなく発育と共に円味を帯び胞子形成	短桿菌
大きさ	4.2×0.7μ	3.3×1.1μ	2.5×1.5μ
運動性	活潑	活潑	活潑
鞭毛	極毛1本	極毛1本	極毛1本
芽胞	芽胞形成せず	芽胞形成	芽胞形成
グラム染色	陽性	陽性	陽性

第18表　培養性質

(1) ヂェラチン平板培養性質

項目 ＼ 菌株	W′—1	S′—1	S′—2
a. 集落の大きさ	0.25~0.45 mm	0.35~061	0.25~0.46
b. 形状	点状	同左	同左
c. 表面性質	凸円状	同左	同左
d. 内部構造	内部不明	同左	同左
e. 周縁	不定形	同左	同左
f. 光学的性質	汚白色	同左	同左
g. 液化性	液化	同左	同左
形状	盃状陥没	同左	同左
外観	汚化部白汚	同左	同左

(2) 寒天平板培養性質

菌株 / 項目	W′—1	S′—1	S′—2
a. 集落の大きさ	0.27〜0.46 mm	0.37〜0.63	0.30〜0.53
b. 形状	点状	同左	同左
c. 表面性質	凸円状	同左	同左
d. 内部構造	周囲顆粒状	同左	同左
e. 周縁	切裂状	同左	波形状
f. 光学的性質	不透明，灰白色	同左	同左

(3) ヂェラチン穿刺培養性質 (18°C)

菌株 / 項目	W′—1	S′—1	S′—2
a. 基上表面性質	扁平円滑	同左	同左
b. 穿刺線状態	糸状	同左	同左
c. 液化状態	噴火口状	漏斗状	同左
d. 液化ヂェラチン性状	薄白色	同左	同左

(4) 寒天劃線培養性質 (37°C)

菌株 / 項目	W′—1	S′—1	S′—2
a. 形状	羽毛状	樹脂状	仮根状
b. 表面性質	緩隆起状粗糙	同左	同左
c. 周縁	縷状	切裂状	耳形状
d. 光学的性質	脂肪様光沢	乳光沢	同左
e. 色素生産	——	——	——
f. 密度	皮膜質	同左	同左
g. 臭気	有弱	同左	同左
h. 基質の変色	なし	なし	なし

(5) 寒天穿刺培養性質

菌株 / 項目	W′—1	S′—1	S′—2
a. 表面発育	扁平円滑	同左	同左
b. 穿刺線状態	糸状	同左	同左

(6) 馬鈴薯培養性質 (37°C)

菌株 / 項目	W′—1	S′—1	S′—2
a. 形状	不規則状	同左	同左
b. 表面性質	水膨状	同左	隆起状
c. 周縁	波動状	同左	耳形状
d. 光学的性質	白亜様光沢	乳光沢	白亜様光沢
e. 色素生産	集落は灰白色 基質は灰褐色	暗灰質 灰褐色	灰白色 灰褐色
f. 密度	牛酪質	同左	同左
g. 臭気	有強	同左	同左
h. 基質の変色	灰褐色	同左	同左

(7) 葡萄糖寒天穿刺培養性質 (37°C)

項目 ＼ 菌株	W′—1	S′—1	S′—2
a. 表面発育	蜂窩状	峰棘状	蜂窩状
b. 穿刺線状態	棘皮状	噴火口状	漏斗状

(8) 牛乳培養性質 (37°C)

項目 ＼ 菌株	W′—1	S′—1	S′—2
a. 反応	アルカリ性	同左	同左
b. 臭気	有弱	同左	同左
c. 瓦斯形成	?	?	?
d. 密度	ペプトン化	同左	同左
e. 凝固部の性質	軟	同左	同左
f. 乳精	少量溷濁	同左	同左

(9) 化学的性質

項目 ＼ 菌株	W′—1	S′—1	S′—2
a. インドール	生成	生成せず	同左
b. 硫化水素	生成せず	同左	同左

第 19 表　用水及び土壌より分離した細菌の耐熱性

加熱温度，時間 ＼ 菌株		W′—1	S′—1	S′—2
100°C	5分	+ + +		
〃	10分	+ + −		
〃	15分	+ + ±		
〃	20分	+ + +		
〃	25分	+ + +		
〃	30分	− − −		
〃	40分	− − −		
〃	50分	− − −		
〃	60分	− − −		
100°C	30分		+ + +	+ + +
〃	60分		+ + +	+ + +
〃	80分		+ + +	+ + +
108.4°C	30分		+ + −	+ + +
〃	60分		+ + +	+ − −
109.9°C	30分		+ + +	+ + +
〃	60分		− − −	− − −

第17表乃至第19表の実験結果よりみるに，W′-1は芽胞を形成せず，又W′-1，S′-1，S′-2菌株ともに試料罐詰より分離した菌に比べてヂェラチンの液化力弱く，更に牛乳の反応は罐詰よりの分離菌株が酸性であるに対してアルカリ性を示し，W′-1はインドールを生成し，硫化水素を生成せず，又S′-1，S′-2はインドール並びに硫化水素を生成しない等の諸点も罐詰よりの分離菌種と異つている。故に罐詰より分離した細菌

の来源は一応工場入口の土壌又は用水でないことが判つたが，正確な来源は不明である。

11. 変敗罐詰肉の化学成分

今参考のため，今回の膨脹罐詰肉と同日に製造された正常罐詰肉との化学成分の比較を行つたが，その実験結果は第20表の如くである。

第 20 表　正常罐と膨脹毛ガニ罐詰肉の化学成分の比較

項目	正常毛ガニ罐詰肉	膨脹毛ガニ罐詰肉
水分 (%)	85.48	84.32
灰分 (%)	1.79	1.39
全窒素 (%)	2.38	2.02
可溶性窒素 (%)	0.18	0.35
非蛋白窒素 (%)	0.18	0.42
アミノ酸態窒素 (mg%)	154.72	41.75
揮発性塩基窒素 (mg%)	5.21	35.43
粗脂肪 (%)	0.64	0.12
pH	7.2	6.7
硫化水素 (mg%)	0.015	0.99

第20表の結果よりみるに，可溶性-N，揮発性塩基-N及び硫化水素は膨脹罐において多く，アミノ酸-N，粗脂肪は逆に減少している。又硫化水素が膨脹罐に多量生成されているのは膨脹罐より分離された細菌が硫化水素を生成する細菌である所からみてもこれら細菌が肉質を分解して硫化水素を増加させたものであることが知られる。

次に膨脹罐肉を試料としてペーパークロマトグラフでアミン類の検出を行つたが，チラミン，ヒスタミン，トリプタミン，ピユトレッシン等が検出された。

要　　約

毛ガニ罐詰の膨脹したものについてその原因を確めるため細菌学的に研究した。その結果を要約すると次の如くである。

（1）分離した細菌は好気的，嫌気的何れにも発育する通性嫌気菌である２種の菌株を得た。

（2）分離細菌の１種は長桿菌であり，他は短桿菌で両菌種とも芽胞を形成する。

（3）培養性質をみるに両菌種ともにヂェラチンの液化力強く，硫化水素を生成する。

（4）両菌種の耐熱性をみるに胞子数が10^4以下では108.4°C（５封度）で５分間で死滅するが，10^6～10^9では20～40分間の加熱に耐え得る。

（5）分離細菌は再接種試験により膨脹原因細菌であることが確められた。

（6）両菌種をその性質よりみるに１つは *Bac. megatherium* に，他は *Bac. mesentericus vulgatus* に類似するものと思われる。

（7）分離細菌は製造用水又は工場入口の土壌より来たものでなく，即ち工場搬入後の汚染でないようである。

（8）膨脹原因としては原料毛ガニに附着していた前記細菌が鮮度の低下と共に繁殖し胞子数が10^4以上の如き胞子濃度の大となると共に，肉詰後の加熱殺菌にも耐え得て残存し，膨脹を起したものと考えられる。故にこれが予防法としては鮮度の良好の中に加熱殺菌迄完了することである。

文　献

1) 谷川・井上 (1952). カニ罐詰の細菌学的研究. 第1報 二三のカニ罐詰の膨脹について (その1). 北大水産彙報 3 (1), 95～103.

2) 谷川・西村 (1954). 同上. 第2報 二三のカニ罐詰の膨脹について (その2). 北大水産彙報 **5** (1). 183—188.

3) Bergey. D. H., Breed. R. S., Murray, E. G. D. & Hitchens, A. P. (1939). *Bergey's Manual of Determinative Bactriology.* Baltimore; The Williams & Wilkins Co.

4) 坂口・天羽 (1951). 日農化 **25**, 104.

5) Tanikawa *et al.* (1953). Studies on the manufacture of canned crab. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **4** (1), 1～39.

カニ罐詰の細菌学的研究

第4報　タラバガニ罐詰の膨脹罐より分離せる細菌の胞子濃度と殺菌程度との関係

谷川英一・手塚一世
（北海道大学水産学部水産食品製造学教室）

Bacteriologicai Studies on Canned Crab

IV. The relation between the degree of sterilization and the concentration of the bacterial spore suspension which was isolated from "swelled canned crab"

Eiichi TANIKAWA and Issei TEZUKA

Abstract

In order to know the relation between the degree of sterilization and the concentration of bacterial spore suspension, bacteria which were isolated from swelled canned crab were used.

From 3 cans of the sample, 3 species of pure culture were obtained; they are called L', M' and N'. The heat resistance of the isolated bacteria became large with the increasing of the concentration of spore suspension. For example, if the number of spores in the suspension was above 10^5, L'-bacteria was sterilized about 80 minutes, M'-bacteria about 60 minutes and N'-bacteria 70 minutes at 109.9°C, respectively.

From the results obtained the limit of freshness degree of crab meat as raw material for the canned product is manifested by the number of the spores of below 10^7.

When such unfresh raw meat as containing above 10^7 of bacteria is packed in cans and processed, the cans will probably become "swelled cans".

同一菌種の細菌胞子でもその濃度の差異により耐熱性に差異を生ずることは Williams[1]，天羽[2)3)]等によつて明らかにされており，谷川[4)] も本研究の第3報において毛ガニ罐詰より分離せる *Bac. megatherium*, *Bac. mesentericus vulgatus* 両菌種についてそれらの胞子濃度と耐熱性との関係を研究した。今回はタラバガニ罐詰の殺菌問題を解決するため，膨脹したタラバガニ罐詰より分離した細菌の胞子濃度と特に加熱温度を種々に変えた場合のそれらの耐熱性を検討したのでこゝに報告する。

実験の部

1. 実験材料

本研究に供試した細菌は昭和27年11月19日～21日に○○漁業株式会社○○工場において製造されたタラバガニ罐詰（平1封度罐）の中，原因不明のため膨脹を起した罐詰より分離したものである。供試罐は3罐でこれを夫々便宜上 L，M，N と呼称する。L，M 罐は何れも最初より片面膨脹の状態にあり，N罐は最初より両面膨脹で Hard swell を呈していた。開罐時の状態は第1表の如くであつた。第1表に示される如く供試罐の巻締は略々良好なため，巻締部の漏洩による膨脹とは考えられない。

第 1 表　供試罐詰の開罐状況

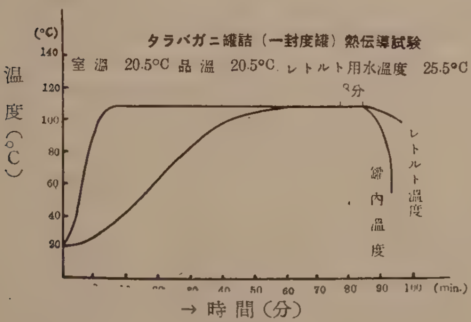
項目 ＼ 供試罐	L	M	N
外観	Soft swell	同左	Hard swell
殺菌圧力，時間	6 lbs., 80分	同左	同左
等級	雌，フレーク	同左	同左
肉質	弾力性若干あり	同左	弾力なし
色沢（皮膚赤色部）	黄褐色	淡赤褐色	同左
香味	生ぐさ臭あり	若干の生ぐさ臭及び酸臭あり	やや酸臭
液汁	溷濁	やや溷濁	同左
揮発性塩基窒素量（mg%）	47.00	96.16	73.32
pH	6.4	6.0	6.8
原料鮮度	不明	不明	不明
巻締状態	何れもB.H.$=^{1}/_{10}$	C.H.$=^{35}/_{64}$	C.H. やや不足気味なれど巻締良好

2. 細菌の分離

前記の3ケの罐詰を供試料として本研究の第1報[1]と同様の方法で好気的，嫌気的に細菌を分離し，純粋培養とした。3ケの供試罐から夫々1菌株宛の純粋培養を得た。それら菌株を便宜上L′,M′,N′菌とした。

3. 分離細菌の耐熱性

一般にカニ罐詰の如く殆んどドライパツクに近いものは罐内の熱伝導がよくない。例えば本研究第3報[4]におけるカニ半封度罐の熱伝導試験結果をみても，又今回カニ1封度罐の熱伝導試験結果（6封度の殺菌温度において）（第1図）からみても殺菌過程中において罐内温度がレトルトの殺菌温度と同温度になつている時間は僅少であり，半封度罐型の時も1封度罐型の時も約8分間である。従つて罐内に存在する細菌の耐熱性が罐内温度に耐え得る時は残存して膨脹変敗を起すこととなる。細菌の耐熱性はその胞子が凝塊を作つているか否か[3]，胞子数の多寡，内容物のpH等によつて異つてくる。胞子の凝塊の存在によつて耐熱性試験結果にSkip を生ずることは天羽[3]ものべている。とゝで著者等は特に胞子数の多寡によつてカニ罐詰の殺菌に及ぼす影響をみるため，前記罐詰より分離した細菌を用いて研究を行つた。



第1図

（i）実　験　法

（1）分離細菌の胞子形成

胞子の形成法は坂口・天羽の方法[3]に準拠して行つた。即ち培養基としては分離細菌が通性嫌気性であつたゝめ寒天斜面培養基を用いた。前記分離細菌より1～2白金耳宛を寒天斜面に接種し，37°Cで8～10日間培養した。

（2）胞子懸濁液の調製

胞子懸濁液中の胞子の数を夫々変えるために Sörensen の $^{M}/_{15}$燐酸塩緩衝液（pH7.0）中へ浮游せしめる

菌苔の採取量を変えた。即ち燐酸塩溶液を棉栓した試験管に15cc宛分注し，120°Cで15分間滅菌しておきこれに前項の Agar-agar 斜面上より菌苔を白金線又は白金耳を用いて釣菌し，浮游せしめてよく振盪して胞子凝塊を破壊し，更に予め乾熱滅菌した東洋濾紙 No.5B 又はCを用いて濾過し，濾液中の胞子を更に均一にするため滅菌ゴム栓をはめ，上下によく振つて混合し，トーマの血球計を用い 1cc 中の胞子数を算出した。これによつて得た胞子懸濁液を原液とした。各原液中の胞子濃度は第2表の如くである。

第 2 表　血球数計器による原液1cc中の胞子数

胞子濃度 / 菌種	最も稀薄なもの（10^2の胞子数を含むもの）	中間濃度のもの（10^3の胞子数を含む）	最も濃厚なもの（10^5の胞子数を含むもの）
L′	181	2800	114000
M′	121	3600	106400
N′	197	2400	164000

（3） 胞子懸濁液の加熱法

各菌株の原液を夫々試験目的によつて原液のまゝ，又は$^1/_{100}$，$^1/_{1000}$，$^1/_{10000}$に稀釈したものをよく混合し滅菌ピペットで夫々の 1cc づつを正確に乾熱滅菌した小試験管（内径7～10mm，長さ70mm，厚さ1mm）3本に分注し，綿栓の上からゴムキヤツプを被せて小型ホーム・レトルト中にて各種加熱温度及び各種時間において加熱試験する。加熱後はレトルト中より取出し，流水中で急速に冷却する。冷却後小試験管内の胞子懸濁液を1白金耳宛普通ブイヨン約10ccを入れた試験管中に無菌的に移植して発育適温に保ち10日間培養をつゞけた後，ブイヨンの溷濁及び菌膜の発生で生死を決定する。加熱後3本の試験管中1本の発育も認めない加熱時間を死滅時間とした。尚原液稀釈には Sörensen の $^M/_{15}$ 燐酸塩緩衝液を用いた。加熱温度と時間は供試罐が何れも6封度（109.9°C）80分間の加熱殺菌であつて罐の巻締状態の良好なものが Soft swell 又は Hard swell に膨脹したことより考え，本実験では6封度（109.9°C）を基準とし，5封度（108.4°C），6封度，7封度（111.3°C），8封度（112.7°C）の温度で，加熱時間は 1cc 中胞子数10万以下のものでは5,10,15,20,30,35,40,60,80分に夫々区切り加熱し，10万以上のものでは20,40,60,80分間に夫々区切つて試験した。又加熱による残存胞子数を求めるために，加熱後の胞子懸濁液を予め100°C30分間温浴中で溶融せしめた寒天培養基と共にシャーレに流し込み，平板培養法にて1昼夜培養後平板上の集落数を計り，残存生菌数とした。

(ii) 実　験　結　果

（1） 胞子濃度の濃淡による分離細菌の耐熱性の差異

第2表におけるが如き胞子濃度の異る原液を用いて耐熱試験を行つた結果は第3表の如くである。第3表よりみるに同菌株においては胞子濃度の濃淡によつて耐熱性に差異のあることは判然と見られ，10^5 以上の胞子を含む場合には耐熱性が非常に大となつている。例えば10^5の胞子濃度のものは6封度（109.9°C）にてL′-菌は約80分間にて死滅し，M′-菌は約60分間，N′菌は70分間にて死滅している。然るに10^2,10^3の如き胞子濃度では3菌株とも夫々10分間及15分間で死滅している。このことから考えてもカニ肉に若し10^5 以上の細菌胞子が附着しておれば8封度（112.7°C）の如き高温度でも殺菌困難なことが判る。

（2） 胞子濃度の濃淡による加熱後の胞子残存数の差異

次に胞子濃度の異る原液（10^2，10^3，10^5）を夫々 $^1/_{100}$，$^1/_{1000}$，$^1/_{10000}$ に稀釈して6封度（109.9°C）に各時間加熱した後の残存胞子数は第4表の如くである。特に胞子濃度の大なるもの（10^5）については実験を3回行つた。

第4表の結果からみるに胞子濃度の稀釈なもの（10^2）は6封度加熱で5分間では残存するが，10分間で死

第 3 表　胞子濃度の濃淡による分離細菌の耐熱性

菌種	胞子濃度	加熱温度 ＼ 加熱時間（分）	5	10	15	20	25	30	35	40	60	80
L′	胞子濃度稀薄なもの（10²）	5封度（108.4°C）	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
		6 〃（109.9°C）	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		8 〃（112.7°C）	±	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	胞子濃度中間なもの（10³）	5封度（108.4°C）	+	+	±	−	−	−	−	−	−	−
		6 〃（109.9°C）	+	±	−	−	−	−	−	−	−	−
		8 〃（112.7°C）	±	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	胞子濃度最も濃いもの（10⁵）	5封度（108.4°C）	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		6 〃（109.9°C）	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
		8 〃（112.7°C）	+	+	+	±	±	−	−	−	−	−
M′	胞子濃度稀薄なもの（10²）	5封度（108.4°C）	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
		6 〃（109.9°C）	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		8 〃（112.7°C）	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	胞子濃度中間なもの（10³）	5封度（108.4°C）	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
		6 〃（109.9°C）	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
		8 〃（112.7°C	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	胞子濃度最も濃いもの（10⁵）	5封度（108.4°C）	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		6 〃（109.9°C）	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−
		8 〃（112.7°C）	+	+	+	+	+	+	+	±	−	−
N′	胞子濃度稀薄なもの（10²）	5封度（108.4°C）	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
		6 〃（109.9°C）	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		8 〃（112.7°C）	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	胞子濃度中間のもの（10³）	5封度（108.4°C）	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
		6 〃（109.9°C）	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
		8 〃（112.7°C）	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	胞子濃度最も濃いもの（10⁵）	5封度（108.4°C）	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
		6 〃（109.9°C）	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
		8 〃（112.7°C）	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−

第 4 表　6封度（109.9°C）において加熱せる場合の胞子残存数

（1） 耐熱試験に供した胞子原液の濃度稀薄なもの（10^2）

菌種	稀釈度＼加熱時間（分）	5	10	15	20	25	30	35	40	60	80
L′	1/100	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/1000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M′	1/100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/1000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N′	1/100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

（2） 同上，胞子原液濃度の中等程度のもの（10^3）

菌種	稀釈度＼加熱時間（分）	5	10	15	20	25	30	35	40	60	80
L′	1/100	6	2	1	0	0	0	0	0	0	0
	1/1000	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M′	1/100	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	1/1000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N′	1/100	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	1/1000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

（3） 同上，胞子原液濃度濃厚のもの

（A） L′ 菌株

稀釈度	$1/10^2$				$1/10^3$				$1/10^4$			
実験度数＼加熱時間	20	40	60	80	20	40	60	80	20	40	60	80
1	263	19	2	0	27	3	0	0	3	1	0	0
2	154	21	4	0	48	12	2	0	1	0	0	0
3	159	49	5	0	36	9	1	0	2	0	0	0
平均	192	30	3.3	0	37	8	1	0	2	0.3	0	0
K	1.093	1.095	1.160	0	1.057	1.084	1.084	0	1.091	1.092	0	0

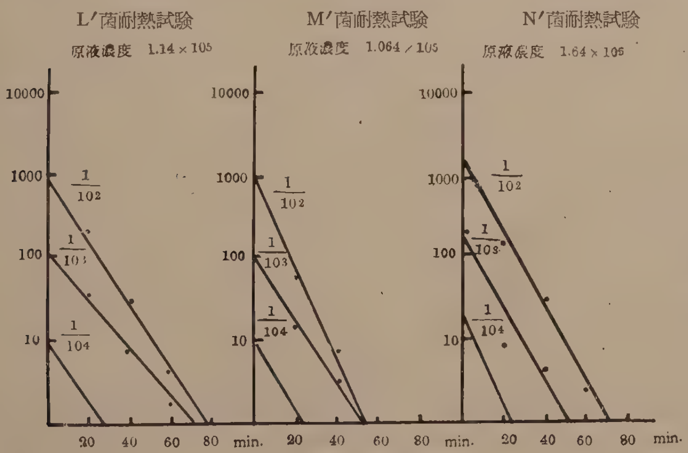
(B) M′菌株

稀釈度	1/10²				1/10³				1/10⁴			
実験度数 ＼ 加熱時間	20	40	60	80	20	40	60	80	20	40	60	80
1	50	11	1	0	18	3	1	0	1	0	0	0
2	31	8	0	0	12	3	0	0	2	1	0	0
3	29	5	0	0	9	2	0	0	1	0	0	0
平均	36.6	8	0.3	0	13	2.7	0.3	0	1.3	0.3	0	0
K	1.185	1.130	1.150	0	1.111	1.095	1.106	0	1.111	1.092	0	0

(C) N′菌株

稀釈度	1/10²				1/10³				1/10⁴			
実験度数 ＼ 加熱時間	20	40	60	80	20	40	60	80	20	40	60	80
1	136	23	3	0	56	6	1	0	1	0	0	0
2	110	35	2	1	89	5	0	0	2	0	0	0
3	269	38	0	0	132	3	0	0	1	0	0	0
平均	172	32	1.7	0.3	92.6	4.7	0.3	0	1.3	0	0	0
K	1.185	1.130	1.150	1.112	1.028	1.093	1.113	0	1.111	0	0	0

滅し，濃度中等度のものは稀釈度が小さければ即ち胞子数の多いものは15分間の加熱にも耐えて残存する胞子がある。然るに胞子濃度の大なもの（10^5）においては各菌株にて異り，L′-菌は約80分間の加熱にて死滅し，M′-菌は約60分，N′菌は約70分間で死滅している。胞子濃度の最も稀薄なもの（10^2）及び中等度のもの（10^3）では死滅時間が短いので，胞子濃度の大なるもの（10^5）について加熱致死速度曲線を得るために縦軸に単位量の培地中の胞子数の対数をとり，横軸に加熱時間をとつて加熱致死速曲線を描くと第2図の如くである。



第 2 図

坂口及び天羽[3]両氏は細菌胞子の加熱による死滅は一分子反応的に進行し，次式で表わされることを述べている。即ち

$$K=\frac{1}{t}\log\frac{a'}{b'}\cdots\cdots(1)$$

こゝにKは加熱致死速度恒数，tは加熱時間，a′は最初の菌数，b′はt′分間の加熱後の残菌数である。

こゝで第4表の数値を（1）式に代入してKを求めると同表の最下欄に示した如き数値が得られた。

第2図から明らかな如く胞子濃度が大なる程，又加熱時間が短い程死滅し難いことが判る。

結　　　論

以上の実験結果から供試罐詰の膨脹は原料の不鮮による細菌の汚染度の増加による殺菌不足に原因していることは明らかである。即ちカニ肉の鮮度の低下による細菌数の増加は既に谷川及び秋場[6]によつて明らかにされており，カニ罐詰原料としての鮮度の限界以上においては細菌数は 10^7/g 以上となり，かゝる不鮮原料を使用した場合には現在一般に工場で行われている殺菌時間では不足と思われる。以上のことを綜合して考えると今回のカニ罐詰膨脹罐を惹起した原料は相当不鮮なものであつたことが判る。

要　　　約

（1）本研究は Soft swell 及び Hard swell を起したカニ罐詰より分離した細菌を用いて実験を行つた。

（2）3ケの供試罐より夫々1菌株づつの純粋培養を得，それらの菌株を L′,M′,N′ 菌とした。

（3）分離細菌の耐熱性は胞子濃度の大なるもの程強く，例えば胞子濃度10^5のものは6封度（109.9°C）でL′菌は約80分間にて死滅し，M′菌は約60分間，N′菌は70分間で死滅している。

（4）以上の実験結果からカニ罐詰原料として鮮度の限界は細菌の胞子数 10^7/g となり，かかる限度以上の不鮮原料を使用した場合は膨脹罐を惹起する。

文　　　献

1） Williams, O. B. (1929). *J. Infect. Dis.* **44**, 421.
2） 天羽・坂口 (1951). 日農化 **25**, 140.
3） —— (1952). 日農化 **26**, 339.
4） 谷川・子野日 (1954). 北大水産彙報 **5** (2), 189〜201.
5） ——・井上 (1952). 北大水産彙報 **3** (1), 95〜103.
6） Tanikawa *et al.* (1953). *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **4** (1), 1〜31.

サンマ水煮並にトマト・ソース漬罐詰における原料鮮度と製品々質との関係

谷 川 英 一 ・ 八 木 忠 夫
(北海道大学水産学部水産食品製造学教室)

The Relation between the Freshness Degree of Raw Saury (*Cololabis saira* (*BREVOORT*)) and the Qualities of Canned Boiled Saury and of Canned Tomato-Sauced Saury

Eiichi TANIKAWA and Tadao YAGI

Abstract

In order to ascertain the relation between the freshness of the raw material and the qualities of canned boiled saury and of canned tomato-sauced saury, a series of studies was made and the following results were obtained.

(1) Fish bodies of saury were aerobically placed at 17°, 27°, 37° and 47°C (at each temperatures ± 1°C), and the amounts of volatile base nitrogn produced in each sample were determined.

To calculate the bacterial decomposition velocity constant (the volatile base producing velocity constant), equation (2) of the monomolecular autocatalytic chemical reaction to volatile base accumulation was applied after Kimata.

For calculating temperature constant (B) and temperature coefficient (Q_{10}), *Arrhenius*' equation was employed for the results obtained after the manner of Oya's experiment.

(2) At the initial period after placing the material under the stated conditions, the velocity of bacterial decomposition of saury meat was rapid with the rising of temperature within the limit of the experimental temperatures, therefore the amount of chemical products (volatile base) from the sample became larger and the value of the bacterial decomposition velocity constant ($K_1 \times 10^4$) also became larger with the increase of temperature, that is to say, the value of $K_1 \times 10^4$ was 590 at 47°C within 30 hours, 480 at 37°C, 300 at 27°C and 270 at 17°C within 20 hours. After 20 hours and 30 hours, the bacterial decomposition velocity constant became the reverse, that is to say, the value of $K_2 \times 10^4$ was 550 at 17°C, 480 at 27°C and 37°C, 400 at 47°C.

(3) The time until which the reaction is half completed, was 50 hours at 47°C, 55 hours at 37°C, 56 hours at 27°C and 17°C, that is to say, the higher was the storing temperature, the shorter was the time.

(4) The values of temperature constant (B) at the initial storing period was 3800 above 27°C, and 6500 between 27°C and 17°C.

(5) The values of the temperature coefficient (Q_{10}) at the initial storing period was 1.2 above 27°C, 1.5 below 27°C, and —1.1 after 30 hours' storing.

(6) The lowest limit of the freshness degree of saury meat as the suitable raw material for canned boiled saury was about 20 mg% of volatile base nitrogen and for canned tomato-sauced saury was about 25 mg%.

(7) The relations between the storing temperatures of raw material and the maximum time of

storing of fish bodies as the material for the canned boiled and tomato-sauced saury can be calculated from equation (6) and (7) or Fig. 7 and 8.

(8) In practical processing of canned saury, a particular scale, showing the relation between the storing temperature and the maximum time of handling of saury bodies until the beginning of the sterilization of the filled cans with the saury meat, was made from the dotted lines, t_{20}-II and t_{25}-II, as shown in Fig. 5 and Fig. 6.

By using this particular scale, when the canned boiled saury is manufactured, at 15°C room temperature, the steam sterilization of saury meat must be started within 21 hours, at 20°C within 12 hours. When canned tomato-sauced saury is manufactured, at 15°C room temperature, the saury meat must be handled and filled in cans and sterilization started within 28 hours, and at 20°C within 17 hours.

(9) In order to learn the reliability of this particular scale, experiments in the practical canning course were made, that is to say, the saury bodies were stored at 6°, 18° and 30°C to make different stages of freshness and then the stored saury bodies were handled and filled in cans and sterilized after different storing periods.

When those cans were opened, the satisfactory results were found to have been obtained as the conclusion of the experimental results for cans.

(10) By using this particular scale, when the saury bodies are handled and processed within the maximum storing time at known temperatures of storing place or canning factory, good qualities of canned saury will certainly be obtained.

サンマ漁業は今までその漁獲量が僅少であつたため余り重要視されていなかつたが，近年太平洋沿岸のイワシ漁業が不漁であることと，機船底曳等の沿岸漁業が甚だしく不況であつたのでこれらに代つてサンマ漁業は躍進的に活潑となつて来た。一方その利用面においても罐詰業者の努力からこのサンマを原料とする水煮並びにトマト・ソース漬罐詰が製造され海外への輸出も試みられるようになつた。

こゝにおいて著者等はサンマ罐詰製造時における原料サンマの鮮度と罐詰品質との関係を究明し，良質の罐詰を製造する参考資料ともなるよう本研究を行つた。

I．サンマ肉の腐敗速度恒数，温度係数及び温度恒数について

先づ原料サンマが放置された場合，その腐敗速度を知るため，種々の温度にサンマを魚体のまゝ放置してその腐敗速度恒数，温度係数及び温度恒数等を求めた。

1. 試料及び実験法

試料としては本道沿岸で漁獲された鮮度良好なサンマを用い，これを魚体のまま47°C，37°C，27°C，17°C（各温度±1°C）の恒温器中に好気的に放置し，5時間経過毎に揮発性塩基窒素及びpHを測定した。試料放置前の揮発性塩基窒素量は11.97mg/100g，アミノ酸態窒素量は0.174%，pH 5.9であつた。

尚揮発性塩基窒素量は脊肉をとり均一化し，Weber-Wilson 氏の方法により温度 45°～50°C，時間40分，140mm/Hgの減圧にて行つた。又アミノ酸態窒素は Pope-Stevens 法によつて行つた。

2. 腐敗速度恒数の算出法

腐敗速度恒数（揮発性塩基窒素量の生成速度恒数）の算出については木俣[1]に倣い，一分子自己触媒反応の式(1)に拠つた。

$$\log \frac{y}{A-y} = Kt + C \cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

但し(1)式中，y＝揮発性塩基窒素の増加量，A＝揮発性塩基窒素の最大生成量，t＝測定迄の放置時間，K＝揮発性塩基窒素生成速度恒数，C＝定数

(1)式より$\log\frac{y}{A-y}$と時間tとの関係は直線で図示され，直線の傾きによりKの値が求められる。尚反応が半分完結するに要する時間t_lは次の(2)式による。

$y=A/2$ なる故　　$\log\frac{y}{A-y}=Kt_l+C$　　より　$0=Kt_l+C$……(2)

次に同一試料について各温度に於いて行つた実験結果を大谷[2]に倣い Arrheniusの式(次記(3)及び(4)式)を用い，腐敗の温度恒数(B)及び温度係数(Q_{10})を求めた。

$$B=\frac{a}{\log e}\cdot R\text{……(3)}\qquad \log Q_{10}=a\cdot\frac{10}{T(T+10)}\text{……(4)}$$

但し(3)式中aは$\log K=-a\cdot\frac{1}{T}$……(6)なる関係より$\log K$と$\frac{1}{T}$の直線の傾斜の度合を示し，R＝ガス恒数((1.985 cal)，B＝温度恒数，(4)式中T＝絶対温度，Q_{10}＝温度係数

3. 実験結果

実験結果を図表に示すと，第1表及び第1図の如くになる。第1表及び第1図から明らかな如く実験温度

Table 1. The variation of the amount of volatile base nitrogen and pH values when the crushd saury meat was placed at different temperatures

leaving time (hrs)	at 17°C		at 27°C		at 37°C		at 47°C	
	volatile base-N	pH	volatile base-N	pH	volatile base-N	pH	volatile base-N	pH
0	mg% 11.9	5.9	11.9	5.9	11.9	5.9	11.9	5.9
5	12.2	〃	14.2	〃	16.5	6.0	15.8	6.0
10	14.1	〃	16.1	6.0	18.3	〃	20.3	6.1
15	14.9	6.1	20.0	6.2	23.9	6.3	29.4	6.3
20	16.5	6.0	20.2	6.1	31.4	〃	48.9	6.4
25	18.9	〃	25.3	〃	45.0	〃	73.7	6.5
30	24.0	〃	35.7	6.0	61.2	6.6	122.4	6.6
35	31.9	〃	57.2	〃	93.4	〃	187.1	〃
40	43.1	6.2	82.1	6.4	137.0	〃	247.9	6.7
45	65.2	6.3	125.0	〃	203.6	6.8	364.1	6.8
50	75.2	〃	172.0	6.5	310.0	6.7	520.7	〃
55	141.1	6.4	247.8	〃	395.8	6.9	606.9	6.9
60	156.3	6.5	317.3	6.7	533.7	7.0	794.4	7.1
65	225.6	〃	351.9	〃	—	—	—	—
70	258.2	6.6	362.2	〃	667.2	7.1	842.8	7.0
75	270.1	〃	401.4	6.8	—	—	—	—
80	271.1	〃	400.0	6.7	742.3	7.1	851.8	7.2
85	289.0	6.8	418.6	6.9	—	—	—	—
90	265.8	6.7	409.5	〃	701.8	7.2	852.9	7.2
95	295.4	〃	377.0	6.8	—	—	—	—
100	280.1	〃	417.7	〃	748.7	7.2	814.9	7.2

の範囲内では温度が高くなるほど腐敗速度大である。即ち47°C，37°Cにおいては10～60時間位迄の間揮発性窒素量の増加著しく，27°C，17°Cにおいては30～70時間までその増加著しいが，その初期においては増加の程度は小さい。而して何れの場合においても放置時間の経過と共に漸次上昇し，47°Cでは75時間，37°Cでは80時間，27°Cでは85時間，17°Cでは95時間で略々平衡となつている。平衡状態となつた場合の揮発性塩基窒素量は17C°放置の時は290mg%，27°Cでは420mg%，37°Cでは740mg%，47°Cでは850mg%と考えられる。

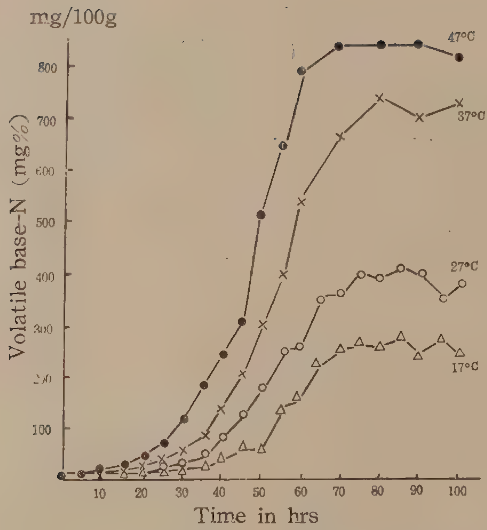


Fig. 1. The variation of the amount of volatile base nitrogen when the crushed saury meat was placed at different temperatures

次に第1図より各時間tに対する$\log\frac{y}{A-y}$を算出し，その関係を図示すると第2図の如くになる。即ちtと$\log\frac{y}{A-y}$とは直線関係にあり，(1)式の成り立つことが判る。従って腐敗速度恒数はこの直線の勾配で表わされる。第2図における直線関係をみると37°Cの場合を除き，何れも二段になつている。今一段目の腐敗速度恒数をK_1，二段目の腐敗速度恒数をK_2として第2図より各温度におけるK_1及びK_2の値を求めると第2表の如くになる。

第2表及び第2図により明らかな如く，放置温度の低い程腐敗初期における腐敗速度恒数(K_1)は小さく$K_1 \times 10^4$の値として590,480,300,270を示しているが，47°Cの場合においては30時間をすぎるとその値が減じ，$K_2 \times 10^4$が400となり，又37°Cの場合は略々一直線となりK_1と同等の480という値を示している。又27°C及び17°Cにおいては初期の腐敗速度が非常に小であるため20時間目迄は$K_1 \times 10^4$が300及び270として表わされていたが，以後分解速度が急激に増大し，$K_2 \times 10^4$として夫々480，550の値を示している。この速度恒数から考えられる通り反応を半分完結するに要する時間は何れも50～60時間の範囲内であり，47°Cで50時間，37°Cで55時間，27°C及び17°Cでは56時間と殆んど近い値を示している。

次にサンマ魚肉について腐敗温度係数及び温度恒数をK_1及びK_2について(3)及び(4)式より求めるために第3表，第4表及び第3図，第4図に示す如くlog Kと絶対温度の逆数1/Tとの関係を求めた。

更に第3図及び第4図よりK_1及びK_2における温度恒数B及び温度係数Q_{10}を(3)及び(4)式より算出した結果が第5表の如くである。

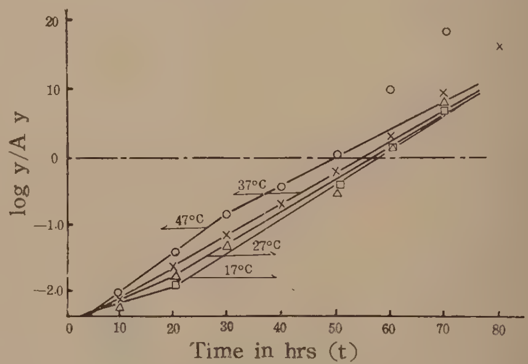


Fig. 2. Relation between the values "$\log\frac{y}{A-y}$" and time, "t"

Table 2. The bacterial decomposition velocity constants of crushed saury meat at different temperatures

Leaving temp.	$K_1 \times 10^4$	$K_2 \times 10^4$
17°C	270	550
27°C	300	480
37°C	480	480
47°C	590	400

第5表によると0～20,30時間までは放置温度が10°C上昇する毎に腐敗速度は17°～27°Cの範囲では1.5倍，27°～47°Cの範囲では1.2倍となり，又30時間をすぎると逆に10°C下降する毎に1.1倍づゝ腐敗速度が増大する。即ち高い温度においては30時間位迄の腐敗速度が急激であり，低温においては30時間位を経た後にその腐敗が激しくなる故その時間的なずれが$Q_{10} \fallingdotseq -1.1$なる現象として

Table 3. The relation between values "1/T" and "log K_1"

t°C	$K_1 \times 10^4$	T	1/T	log $K_1 \times 10^4$
47	590	320	0.003125	2.7709
37	480	310	0.003226	2.6812
27	300	300	0.003333	2.4771
17	270	270	0.003448	2.4314

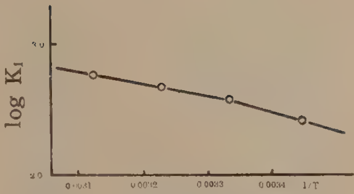


Fig. 3. Relation between the values "1/T" and and "log K_1"

Table 4. The relation between the values "1/T" and "log K_2"

t°C	$K_2 \times 10^4$	T	1/T	log $K_2 \times 10^4$
47	400	320	0.003125	2.6021
37	480	310	0.003226	2.6812
27	480	300	0.003333	2.6812
17	550	290	0.003448	2.7404

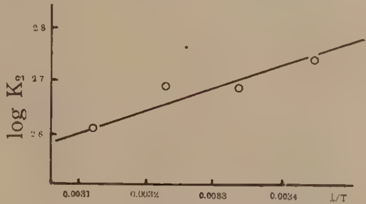


Fig. 4. Relation between the values "1/T" and "log K_2"

Table 5. The values of temperature constants and temperature coefficients

K	K_1		K_2
	17°～27°C	27°～47°C	17°～47°C
B	6500	3800	1900
Q_{10}	1.5	1.2	−1.1

あらわれたものと考えられる。

II. サンマの放置温度と許容最大放置時間との関係

1. サンマ水煮及びトマト・ソース漬罐詰原料としての最低鮮度限界

一般に魚肉の初期腐敗時の揮発性塩基窒素量は30mg%とされているが[3]，この程度の鮮度の原料を罐詰とした場合，その品質の良否が問題となつてくる。こゝで著者等は先づ鮮度良好なサンマ(揮発性塩基窒素量10mg%）を室温（16°～19°C）に放置して鮮度を低下せしめてゆき，各鮮度段階における原料を用いて常法（脱気100°Cにて水煮罐詰は10分間，トマト・ソース漬罐詰は20分間，殺菌は何れも8封度にて1時間30分とした）にて水煮罐詰及びトマト・ソース漬罐詰を製造し，3週間後開罐検査した。その結果を示すと第6表及び第7表の如くである。

第6表及び第7表の開罐結果から考察される如く，サンマ水煮罐詰においては一般に初期腐敗と謂われる揮発性塩基窒素量30mg%までの原料を用いたものは味覚的には食用に供し得たが，その製品的品質からみた場合，液汁の溷濁程度及び浮上油の性質，魚肉の色相，味等から考えて良製品を作るためのその原料の最低鮮度限界を揮発性塩基窒素量20mg%とするのが妥当であるように思われる。これは著者の一人谷川[1]が曩にカニ罐詰製造の際において，カニ肉の初期腐敗は揮発性塩基窒素量にして30mg%であるがその原料としての最低鮮度限界が20mg%であることをみたのと一致している。

一方サンマ・トマトソース漬罐詰の原料最低鮮度限界は第7表からみられる如く，水煮罐詰においては原料鮮度（揮発性塩基窒素量）25mg% のものは罐詰製品において極めて微異臭が感ぜられたが，トマト・ソース漬罐詰とした場合はトマト・ソースの匂によつて陰蔽されたためか何ら微異臭も感じなかつた。又液汁も殆んど澄明であり，トマト・ソースの色相以外の異常は認められなかつた。即ち一般鑑定では良製品とみられるものであつた。これらのことよりトマト・ソース漬罐詰においてはその原料の最低鮮度限界を揮発性塩基窒素量にして25mg%と見做すことが出来ると思われる。

Table 6. The qualities of canned boiled saury made from raw material which were of various degrees of freshness

Raw material			Results of canned boiled saury after opening									Quality
leaving time (hrs)	volatile base-N (freshness) (mg%)	pH	volatile base-N (mg%)	pH*	vacuum (inch)	odor	color	juice	curd	hardness	oil	
0	10.0	6.0	23.8	6.3 6.2	6	good	good	trans-parent	−	+++	yellow droplet quantity	splendid
5	14.5	6.0	25.6	6.4 6.2	6	fair	fair	〃	±	++	+	good
10	18.3	6.0	33.2	6.4 6.2	8	〃	〃	slightly colored	−	++	+	〃
15	20.5	6.0	33.0	6.4 6.2	8	〃	〃	〃	±	++	++	〃
20	22.7	6.1	31.3	6.4 6.2	6	slightly smell	〃	slightly turbid	±	++	++	fair

* The upper number is the values of pH of the meat, the lower number in the values of pH of the juice. The same applies to that follow.

Table 7. The qualities of canned tomato-sauced saury made from raw material which were various degrees of freshness

Raw material			Results of canned tomato-sauced saury after opening								Quality
leaving time (hrs)	volatile base-N (freshness) (mg%)	pH	volatile base-N (mg%)	pH*	vacuum (inch)	odor	color	juice	curd	hardness	
0	10.0	6.0	25.6	6.3 6.0	8	good	good	good trans-parent	−	+++	splendid
5	14.5	6.0	25.1	6.1 6.1	10	fair	fair	good	−	++	good
10	18.3	6.0	32.4	6.2 6.1	6	〃	〃	〃	±	++	〃
15	20.5	6.0	32.1	6.2 6.1	6	〃	〃	〃	±	++	〃
20	22.7	6.1	35.7	6.2 6.1	6	〃	〃	〃	−	++	〃
25	25.5	6.1	33.9	6.2 6.1	8	〃	〃	slightly turbid	−	++	〃
30	27.1	6.0	39.1	6.2 6.1	8	〃	〃	〃	−	+	fair
35	31.3	6.1	38.8	6.2 6.1	7	slightly smell	slightly smell	〃	−	slightly soft	poor
40	34.5	6.2	45.6	6.2 6.1	7	〃	〃	turbid	±	±	〃
45	38.8	6.2	44.8	6.2 6.1	9	stale	pale	〃	−	±	〃

* Same as in Table 6.

サンマの水煮罐詰の場合，揮発性塩基窒素量が20mg% を越えた原料を用いた場合において先づ顕著に現われるのは液汁の溷濁であり，25mg% を越えるに至つて完全に白濁する。又浮上油を見るに鮮度良好のものを用いた場合は黄色の美しい小滴を呈しているが，30mg% を示す原料を用いたものは褐色を呈し油滴も大きくその量も多くなる傾向にあつた。肉質は 27mg% のものから極めて軟弱となり，30mg% を越えたものにおいては上部に少しく肉崩れが見られ又骨離れしているものもあつた。肉の色相については 27mg% を越えた原料を用いるとその鮮色味が無くなる。即ち皮膚の剝離の見られるものもあり，一体に魚体が黒ずんだ色を呈し 30mg% を越えた原料では赤色を呈し，著しくその鮮色味を害している。一方トマト・ソース漬罐詰においてはトマト・ソース自体の色沢，香気及び粘性によつて水煮罐詰において見られた微細な異常要素が陰蔽され，その最低鮮度限界は 25mg% まで拡げられている。而して液汁に異常性が明瞭に現われるのは揮発性塩基窒素量30mg% を越えた原料を用いた場合であつて，それ以下のものにおいては僅かにトマトソースの凝固度が大となる傾向が見られた。又臭気においても 30mg% 以上のものに始めて微異臭が認められた。唯肉質の軟化程度は水煮製品と同様の程度を示し 27mg% を越えた原料はすでにトマト・ソース漬罐詰としても不適であると考えられた。

一般に肉類罐詰において原料肉中の揮発性塩基窒素量は罐詰製造後その量が増大しているものである[5]。サンマ水煮罐詰においてもトマト・ソース漬罐詰においてもその傾向は見られる。即ち原料中の揮発性塩基窒素量が 18mg% 以上存在するものはこれを罐詰として後開罐すれば罐内容物中の揮発性塩基窒素量は両者罐詰とも30mg%以上に達している。

以上の実験結果からサンマ原料の最低鮮度限界は水煮罐詰では揮発性塩基窒素量 20mg%，トマト・ソース漬罐詰では25mg%とするのが妥当であると考えられる。

2. サンマ水煮罐詰及びトマト・ソース漬罐詰原料としての許容最大放置時間

以上の実験結果によりサンマ水煮罐詰の原料の最低鮮度限界として揮発性塩基窒素量として20mg%，トマト・ソース漬罐詰原料として25mg%までのものを使用すれば良製品を得ることが判つた。

サンマの腐敗速度の試験（I）において第1図より見るに，揮発性塩基窒素量 20mg% に達する迄の各放置温度における時間（t_{20}とする）及び25mg%に達する時間（t_{25}とする）を表に纒めると第8表の如くである。

Table 8. The time until which the amount of volatile base nitrogen reaches to 20 and 25 mg% of in meat of saury at different temperatures

t_θ	47°C	37°C	27°C	17°C	5°C
	hrs	hrs	hrs	hrs	hrs
t_{20}	8	11	15	25	78
t_{25}	12	16	24	30	98

又放置温度とt_{20}及びt_{25}との関係を図示すると夫々第5図のI曲線の如くなる。更に放置温度と log t_{20}及びlog t_{25}との関係を図示すれば夫々第6図のI直線の如く20°Cを境として二段に折れた直線となる。且つ放置温度とt_{20}及びt_{25}とは対数関係 $\log t\theta = \alpha - \beta\theta$……(5)があることが判つた。

こゝで考えられることは実際罐詰製造工程において大量の原料を処理するが故に魚体の損傷及び汚染を来たし，原料デッキに山積するがための圧迫等も考えられ，又作業工程の都合により殺菌工程に可成りの時間の遅延を生ずることもある。且つ又漁獲状況によつて鮮度にかなりの差異の

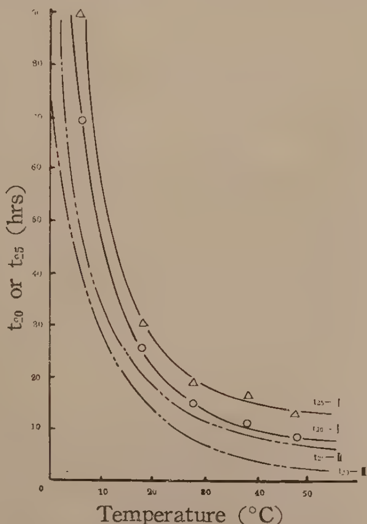


Fig. 5. Relation between the values "t_{20}" or "t_{25}" and storing temperature

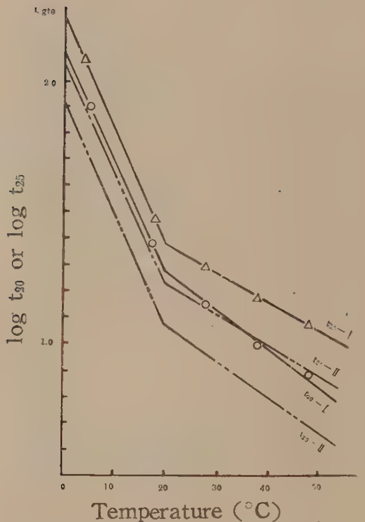


Fig. 6. Relation between the values of "log t_{20}" or "logt_{25}" and storing temperature

あるものが，製造原料として工場に搬入されてくる場合もあると考えられるので，これらの時間のズレを安全率として大体15°C放置の場合に10時間の余裕を見て推定する時，第5図に示す如くt_{20}－Ⅰ，t_{25}－Ⅰに平行的な曲線t_{20}－Ⅱ，t_{25}－Ⅱが得られ，又第6図にても同様にt_{20}－Ⅰ，t_{25}－Ⅰに平行な直線t_{20}－Ⅱ，t_{25}－Ⅱが得られる。とゝで第5図及び第6図に示す破線t_{20}－Ⅱ，t_{25}－Ⅱを基礎として放置温度と許容最大放置時間との脊合せ区数尺を作製することとする。

3. 放置温度とサンマ原料の許容最大放置時間との脊合区数尺の作製

第6図より $\log t_\theta = \alpha - \beta\theta$ の成り立つことが判つたが，t_{20}－Ⅱ，t_{25}－Ⅱ 共に20°Cを境にして異なる勾配を示している。

Table 9. The values of α and β

$t\theta$	Temp.	α	β
t_{20}	above 20°C	1.35	0.014
	below 20°C	1.95	0.042
t_{25}	above 20°C	1.47	0.012
	below 20°C	2.08	0.043

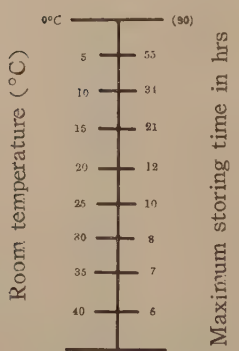
今その直線の各々についてα及びβを算出すれば第9表の如くになる。

即ち t_{20} においては

$$\left.\begin{array}{ll} 20°C以下では & \log t_{20} = 1.95 - 0.042\theta \\ 20°C以上では & \log t_{20} = 1.35 - 0.014\theta \end{array}\right\} \cdots\cdots(6)$$

t_{25}においては

$$\left.\begin{array}{ll} 20°C以下では & \log t_{25} = 2.08 - 0.043\theta \\ 20°C以上では & \log t_{25} = 1.47 - 0.012\theta \end{array}\right\} \cdots\cdots(7)$$



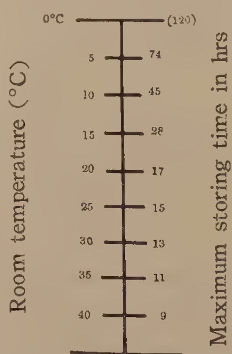


Fig. 7. Relation between storing temperature and maximum storing time for raw material in the case of manufacture of canned boiled saury (left fig.)

Fig. 8. Relation between storing temperature and maximum storing time for raw material in the case of manufacture of tomato-sauced saury (right fig.)

(6)式及び(7)式を用いてt_{20}及びt_{25}の各温度における値を求み，それらの相関々係を脊合せ区数尺として示すと第7図及び第8図の如くになる。即ち第7図はサンマ水煮罐詰の原料の各温度における許容最大放置時間であり，第8図はサンマ・トマト・ソース漬罐詰の場合である。

4. 作製された脊合せ区数尺の信頼性

前項の如くして作製された脊合せ区数尺の信頼性を確めるためサンマ魚体を 4°C，18°C及び30°(±1°C)の温度において第7図及び第8図並びに(6)式及び(7)式により求められた原料の許容最大放置時間内外放置し，それら魚体を原料として水煮罐詰及びトマト・ソース漬罐詰を常法に従つて製造して後4週間放置して開罐検査し，それらの製品々質を鑑定した。その開罐検査結果は第10表乃至第15表の如くである。

Table 10. The quality of canned boiled saury made from raw material which was left at 30 C

Raw material			Results of canned boiled saury after opening									Quality
leaving time (hrs)	volatile base-N (mg%)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	*vacuum (inch)	odor	color	juice	curd	hardness	oil	
0	9.9	6.0	22.1	6.4 6.2	5	good	good	trans-parent	−	+++	yellow droplet	splendid
8	16.5	6.0	26.7	6.4 6.2	5	fair	〃	slightly colored	−	++	〃 +	good
12	19.4	6.0	28.9	6.5 6.3	5	〃	fair	〃	±	++	〃 +	〃
16	27.1	6.0	34.1	6.4 6.2	7	slightly smell	〃	slightly turbid	±	+	〃 +	poor
20	31.0	6.1	37.3	6.4 6.2	5	〃	slightly colored	turbid	−	±	dark yellow	〃
24	38.1	6.2	47.0	6.5 6.3	5	stale	pale	〃	−	soft	++	〃

Table 11. The quality of canned boiled saury made from raw material which was left at 18 C

Raw material			Results of canned boiled saury after opening									Quality
leaving time (hrs.)	volatile base-N (mg%)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	*vacuum (inch)	odor	color	juice	curd	hardness	oil	
15	12.4	6.0	22.3	6.3 6.1	5	fair	good	transparent (pink)	±	++	+	good
20	15.4	6.0	27.6	6.3 6.2	5	〃	〃	〃	+	++	+	〃
24	19.1	6.0	30.3	6.4 6.2	5	〃	fair	〃	±	++	++	〃
29	22.6	6.1	28.6	6.4 6.2	6	〃	〃	slightly turbid	+	++	++ (dark color)	fair
34	25.4	6.1	32.1	6.4 6.2	6	slightly smell	〃	turbid	−	+	++	poor
39	31.5	6.2	40.8	6.4 6.2	7	stale	pink	〃	−	+	++	〃
44	34.2	6.2	44.2	6.4 6.2	5	stale	〃	〃	±	±	++	〃

* Same as in Table 6.

Table 12. The quality of canned boiled saury made from raw material which was left at 6°C

Raw material			Results of canned boiled saury after opening									Quality
leaving time (hrs)	volatile base-N (mg%)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	*vacuum (inch)	odor	color	juice	curd	hardness	oil	
47	14.3	6.0	24.1	6.4 6.2	6	fair	fair	transparent slightly colored	±	++	+	good
56	17.5	6.0	25.3	6.3 6.1	8	〃	〃	〃	−	++	+	〃
65	18.5	6.0	32.4	6.4 6.2	8	〃	〃	〃	−	++	+	〃
73	20.6	6.0	30.1	6.4 6.2	7	〃	〃	〃	±	++	++	〃
80	21.7	6.0	29.9	6.5 6.2	5	〃	〃	〃	±	+	+	fair
91	23.2	6.1	35.2	6.4 6.2	8	slightly smell	slightly poor	slightly turbid	+	+	+	poor
97	25.2	6.1	34.2	6.4 6.2	6	〃	poor	turbid	+	+ soft	++	〃

Table 13. The quality of canned tomato-sauced saury made from raw material which was left at 30°C

Raw material			Results of canned tomato-sauced saury after opening							Quality
leaving time (hrs.)	volatile base-N (mg%)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	*vacuum (inch)	odor	color	juice	hardness	
0	9.9	6.0	26.6	6.2 6.1	8	good	fair	transparent	+++	splendid
8	16.5	6.0	28.9	6.2 6.1	6	fair	〃	〃	++	good
12	19.4	6.0	30.1	6.2 6.1	7	〃	〃	〃	++	〃
16	27.0	6.0	35.0	6.2 6.1	7	〃	〃	〃	+	fair
20	31.0	6.1	36.2	6.2 6.1	7	slightly smell	slightly dark	slightly turbid	+slightly soft	poor
24	38.1	6.2	43.9	6.3 6.1	9	stale	pale	turbid	±	〃

* Same as in Table 6.

Table 14. The quality of canned tomato-sauced saury made from raw material which was left at 18°C

Raw material			Results of canned tomato-sauced saury after opening							
leaving time (hrs)	volatile base-N (mg%)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	*vacuum (inch)	odor	color	juice	hardness	Quality
15	12.4	6.0	22.7	6.1 / 6.0	6	good	fair	transparent	+++	splendid
20	15.4	6.0	27.2	6.1 / 6.1	11	fair	〃	〃	++	good
24	19.1	6.0	28.2	6.1 / 6.1	7	〃	〃	〃	++	〃
29	22.6	6.1	32.0	6.2 / 6.1	7	〃	〃	〃	++	〃
34	25.4	6.1	31.7	6.2 / 6.1	9	〃	〃	〃	+	fair
39	31.5	6.2	40.9	6.2 / 6.1	9	slightly smell	slightly dark	slightly turbid	+	poor
44	34.2	6.2	45.4	6.2 / 6.1	9	stale	pale	turbid	±	〃

Table 15. The quality of canned tomato sauced saury made from raw material which was left at 6°C

Raw material			Results of canned tomato-sauced saury after opening							
leaving time (hrs)	volatile base-N (mg%)	pH	volatile base-N (mg%)	pH	*vacuum (inch)	odor	color	juice	hardness	Quality
47	14.3	6.0	25.1	6.1 / 6.1	10	fair	fair	transp. good	++	good
56	17.5	6.0	26.9	6.1 / 6.1	6	〃	〃	〃	++	〃
65	18.5	6.0	30.3	6.2 / 6.1	5	〃	〃	〃	++	〃
73	20.6	6.0	31.1	6.2 / 6.1	10	〃	〃	〃	++	〃
80	21.7	6.0	33.3	6.2 / 6.1	7	〃	〃	〃	++	〃
91	23.2	6.1	35.9	6.3 / 6.1	7	〃	〃	〃	++	〃
97	25.2	6.1	36.3	6.2 / 6.1	8	〃	〃	slightly turbid	+	fair

* Same as in Table 6.

第7図及び第8図の脊合せ区数尺から求めたサンマ原料の許容最大放置時間は水煮罐詰の場合即ちt_{20}では30°Cで8時間，18°Cで14時間，6°Cで53時間を示し，トマト・ソース漬罐詰の場合即ちt_{25}では30°Cで13時間，18°Cで20時間，6°Cで7時間の値を示している。

而して第10表乃至第15表にて明らかな如く，何れも許容最大放置時間内に製造されたものは良製品が得られた。これによつてみても実際罐詰工場において大量生産される場合の諸要因を考慮に入れて安全率として15°Cの時に10時間の余裕を見たことは妥当と思われる。この実験において安全率をみなかつた放置時間即ち第5図及び第6図におけるt_{20}−I及びt_{25}−Iから求めた時間と開罐結果と対比するに，この場合では殆んどぎりぎりの原料最低鮮度限界となつている。これらのことからみても実際工場において安全率の必要が生ずることは明らかであり，第5図のt_{25}−II及t_{20}−IIを基準とした区数尺を用いる方が安全である。

尚本実験においても水煮罐詰にては原料の鮮度は揮発性塩基窒素量にして20mg%，トマト・ソース漬罐詰においては25mg%がその最低鮮度限界であることが確認されたので，実際製造を行うに当つては揮発性塩基窒素をより簡単な土屋[6]又は高田[7]等の比色法で適当時間毎に測定しながら罐詰製造を行うことが望ましい。

III. 要　　　約

サンマ水煮罐詰及びトマト・ソース漬罐詰の製造時において原料の鮮度と製品々質との関係を知るため種々実験を行い，その関係を示す一つの区数尺を作つた。それら実験結果を要約すると次の如くである。

（1）サンマを魚体のまゝ17°C，27°C，37°C，47°C（各±1°C）の各温度に好気的に放置し，5時間毎に揮発性塩基窒素量を測定し，その結果を一分子自己触媒反応式及びArrheniusの式に代入し腐敗速度恒数，温度係数及び温度恒数を求めた。

（2）魚体の放置初期においては腐敗速度恒数は実験温度の範囲内では温度の高い程，大きな値を示し，47°Cで30時間まで$K_1 \times 10^4$が590，37°Cでは480，27°〜17°Cでは夫々20時間迄300及び270の小さい値を示した。20〜30時間目を過ぎるとその腐敗速度恒数は逆になり，17°Cで$K_2 \times 10^4$が550，27°C及び37°Cでは480　47°Cでは400となつている。

（3）反応を半分完結するに要する時間は47°Cで50時間，37°Cで55時間，27°C及び17°Cでは56時間と大差はなかつたが温度が高い程時間が速かなようである。

（4）サンマの腐敗初期の温度恒数としては27°C以上では3800，27°C〜17°Cでは6500の値を得た。

（5）サンマの腐敗初期の温度係数として27°C以上では1.2，27°C以下で1.5の値を得，30時間を過ぎてからの値は−1.1となることをみた。

（6）サンマ水煮罐詰及びトマト・ソース漬罐詰の原料の最低鮮度限界は揮発性塩基窒素量にて表わせば夫々20mg%及び25mg%であることを明らかにした。

（7）原料の放置温度と許容最大放置時間との関係は(6)式及び(7)式で求めることが出来，第7図及び第8図により見ることが出来る。

（8）実際罐詰を製造するに当つて殺菌加熱操作開始迄の最大放置時間の目安として第5図及び第6図の破線t_{20}−II，t_{25}−IIにて示し，第7図及び第8図の如き放置温度と許容最大放置時間との脊合せ区数尺を作製した。この脊合せ区数尺を使用すればサンマ水煮罐詰を製造する場合，原料サンマを15°Cの気温で処理する場合漁獲後21時間以内に肉詰を行いレトルトに入れて殺菌加熱を始めねばならないし，気温20°Cの時は12時間以内に加熱を始めねばならぬことが判る。又トマト・ソース漬罐詰を製造する時は15°Cの気温では28時間，20°Cの気温では17時間以内に殺菌加熱を始めねばならないとことが判る。

（9）この脊合せ区数尺の信頼度を知るために実際の製造工程についての実験を行つた。即ちサンマを6°C，18°C及び30°Cの温度に放置し，夫々の鮮度としたものを罐詰としてその製品の品質を鑑定したところ満足な結果を得た。

（10）この脊合せ区数尺の使用によつて原料置場，製造工場の温度を測りつゝ許容最大放置時間内に原料に爾後の処理を行えば良質の製品が得られる。

文　　献

1) 木俣 (1941). *J. Imp. Fish. Inst.* 34 (2), 116.

2) 大谷 (1928). 水産学会報 **5** (1), 1.

3) 谷川 (1935). 水産製造会誌 3 (5), 267～296; 3 (6), 319～340.

4) 谷川 外 (1953). 北大水産彙報 **4** (1), 22.

5) a) 谷川 (1949). 罐詰の科学. 167p. 東京; 生活社.
   b) 太田・中村 (1952). 日水誌 **18** (1). 1.

6) 土屋・鹿山. 日本水産学会. 昭和29年度年会に於て発表.

7) 高田・高橋 (1954). 化学の領域 **8** (4), 57.

昭和29年8月1日印刷
昭和29年8月15日発行

編集人　元田　茂
函館市港町253　北海道大学水産学部

印刷所　第一印刷
函館市恵比須町1の2

印刷人　板垣雄二
函館市恵比須町1の2

発行所　北海道大学水産学部
函館市港町253

BULLETIN
OF THE
FACULTY OF FISHERIES
HOKKAIDO UNIVERSITY

Vol. 5, No. 2

CONTENTS